

25X1

ARMY review completed.

Page Denied

Next 17 Page(s) In Document Denied

Österreichische HOCHSCHULZEITUNG

STAT

V. b. b.

Falls unbeschriftet, an:
Wien VII, Kendlg. 19-21

IM AUFTRAGE

DES NOTRINGES

REDAKTION: Wien I, Hanebachgasse 3, Tel. 8 26 2 26
ADMINISTRATION: Adolf Holzhausen Nfg., Wien VII,
Kandlgasse 19-21, Tel. 8 35 4 10, Postparcassen-Kio,
Wien Nr. 173.773 (Adolf Holzhausen Nfg., Buch-
druckerei — Zeitschriftenabteilung)

7. Jahrg. / Nr. 4

15. Februar 1955

ERSCHEINT VIERZEHN TÄGLICH

Einzelhefte S 1,20
Jahresabonnement mit Postzustellung S 24.— Im Inland
Nachdruck nur mit Quellenangabe



Herausgegeben von o. ö. Prof. Dr. Herbert W. Duda

Fortschritt auf Befehl?

Die von den Wissenschaften gefundenen allgemeinen Begriffe sollen zum Allgemein- gut der Menschheit gehören. Solche Begriffs- verallgemeinerung gehört zu den wichtig- sten Aufgaben der Philosophie. Sie ist es ja, die das von den einzelnen Spezialwis- senschaften gefundene bzw. geschaffene Material zu einem Weltbild vereinigen soll. Zu einem Weltbild, das nicht nur den Ge-lehrten angeht, sondern auch — und vor allem — das geistige Gesicht einer Zeit zu prägen, der ganzen Menschheit innerhalb einer Zeitepoche die geistige Ausrichtung zu geben hat.

Ob die Philosophie jemals in der Lage war, diese Aufgabe ungehindert und un- beeinflusst von anderen Faktoren des menschlichen Zusammenlebens zu lösen, ist mehr als zweifelhaft. Stets haben religiöse, politische, wirtschaftliche und gesellschaft- liche Gegebenheiten an der Gestaltung des Weltbildes entscheidend mitgewirkt. Das ist an sich nicht zu beklagen. Ein nur auf abstraktem Denken beruhendes Weltbild bleibt notwendig lebensfremd und Ange-legenheiten einer engbegrenzten Bildungs- gemeinschaft. Der einfache Mensch formt sein Weltbild aus seiner unmittelbaren Er- fahrung, die grundsätzlich eine andere sein muß als die des Gelehrten und mit ihr nur selten in Einklang steht. Nur die Synthese von Leben und Denken, von praktischer Arbeit und theoretischer Forderung kann ein Weltbild schaffen, das lebensnah und richtig zugleich ist.

Bedenklich ist es, wenn bei der Gestal- tung des Weltbildes einer Zeit die Philo- sophie gar nichts mehr zuzurechnen hat, wenn Weltanschauungen im Interesse irgendwelcher Machtgruppen künstlich und unbekümmert um Wahrheit und Wissen- schaft hergestellt werden. Daß das möglich ist, haben wir erlebt. Und wir haben er- lebt, daß dem philosophisch geschulten Denken feststehende Begriffe entwendet wurden, um völlig unwissenschaftlichen Weltbildern als Stütze zu dienen.

Besonders die Naturwissenschaften wer- den von Weltbildfabrikanten solcher Art mit Vorliebe geplündert. Was hat doch z. B. der Begriff „Kampf ums Dasein“? Er be- weisen müssen wir seit langem, und heute ganz besonders, steht der Begriff „Fortschritt“ im Vordergrund des allge- meinen Interesses. Aus dieser Verdrängung der naturwissenschaftlichen Erfahrung ge- schöpft, Alles Lebendige wandelt sich, und alle biologische Wandlung trägt die Ten- denz zur Höherentwicklung im intellektuel- len Bereich. (Antropomorphie) Erkenntnis der Mitmenschlichkeit nach dem Motto: exempla trahunt eundem ad se. Vor Augen stellt, ist gut und richtig. Aber man sollte es in einer Weise tun, die den Begriff des Fortschritts nicht verbiegt und nicht ver- gewaltigt. Vor allem verweigere man bei der Darstellung des „Was“ nicht das „Wie“.

Es ist doch nicht so, daß in der lebendi- gen Natur plötzliche und unmotiviert Wandelungsprozesse auftreten würden; daß diese Wandlungsprozesse von intellektuel- len, mit übernatürlichen Kräften begabten Wesen gelenkt würden, auf deren Befehl sich die Organismen verändern. Gerade den Wortführern des gewaltsamen Fortschritts mußte die Vorstellung solcher zauberhaf- ter Vorgänge im Bereich der Natur odios sein. Gerade sie sollten mit der Erkenntnis vertraut sein, daß biologische Wandlungs- prozesse sich unendlich langsam — eben „organisch“ — vollziehen und nicht auf Be- fehl, sondern nur dort erfolgen, wo die Anpassung an eine geänderte Umwelt sie notwendig macht.

Was soll nun im sozialen Leben ein Fort- schrittsbegriff, den man nur nach Recht als den Naturgesetzen entlehnt bezeichnen könnte, wenn man für dieses nicht nur eine creatio, sondern auch eine mutatio ex nihilo voraussetzen dürfte? Selbstverständlich wandelt sich alles in der Welt, auch die Sitten und Gebräuche, die Rechtsbegriffe, die Eigentumsvor- stellungen, die Sprache und die Schrift. Wären die menschlichen Einrichtungen starr und unbeweglich, dann wären a priori Vernunft, Unsinn und Wohltat Plage. Aber auch diese Wandlung vollzieht sich langsam, or- ganisch und notwendig, den Erfordernissen der Umweltanpassung gehorchend, wie in der Natur. So wenig ich das fünf-

Nicht alle, die beiläufig von den radikalen so- genannten Stuttgarter Vorschlägen zur Reform der deutschen Rechtschreibung gehört haben, sind sich über die verheerenden Folgen auf kulturellem, aber auch auf politischem Gebiet klar, die die An- nahme dieser Vorschläge mit sich bringen würde. — Die ÖZ wird daher in der Folge Vertreter der ver- schiedensten wissenschaftlichen Fachrichtungen sowie Dichter und Schriftsteller zu dieser Frage das Wort sprechen lassen.

Es spricht: der Germanist

Es liegt in der Natur der Sache, daß jedes orthographische System unvollkommen ist und nicht allen erdenklichen Erforder- nissen entsprechen kann. Alle die vielen Errungenschaften des Menschseins, mögen sie auch noch so großartig und staunenswert sein, sind doch immer auch mit einer gewissen Unvollkommenheit be- haftet, und dies ist desto mehr der Fall, je komplizierter die geschaffenen Gebilde sind. Die heutigen Schriftsprachen der hochzivilisierten Kulturvölker sind meist Gebilde von kompliziertester Art, und so können auch ihre Rechtschreibungen nicht sehr einfache Systeme sein. Diese müssen als die Ergebnisse von Kompromissen zwi- schen historischen Gegebenheiten und prak- tischen Belangen verstanden werden. Die lateinische Schrift wird seit rund 1200 Jah- ren zu Aufzeichnungen in deutscher Sprache verwendet, die heute geltende Rechtschreibung geht der Hauptsache nach auf die Zeit um 1500 zurück. In den letzten 200 Jahren geschaffen wurden, heute wird sehr eindringlich die Frage gestellt, ob es nicht an der Zeit ist, diese Grundlagen wesentlich zu erneuern, und diese Frage wird ebenso heftig bejaht wie verneint. Die Befürworter glauben auf das praktische Be- dürfnis einer weitgehenden Vereinfachung unserer Orthographie hinweisen zu sollen. Die Verneiner sind der Ansicht, daß damit auch wesentliche Werte der historischen Entwicklung zu verdrängen sind, preis- gegeben werden. Im Sinne der Vereinfachung soll das, was gleich gesprochen wird, gleich geschrieben werden, die histo- rische Schreibweise gleich geschrieben werden. Wollte man dieses Prinzip z. B. den Eng- ländern und Franzosen, deren Ortho- graphie sich weitgehend historisch beding- t, zuzumuten, dann würde schon für die nächste Generation alles, was bisher in englischer und französischer Sprache ge- schrieben und gedruckt wurde, unlesbar erscheinen. Bei radikaler An- wendung dieses Prinzips auf die deutsche Sprache, deren Orthographie weitaus weniger historisch bedingt ist, würde doch die Lust am Lesen älterer Schriften und Druckwerke so gründlich verloren ver- gehen, daß ein ähnliches Ergebnis zustande käme. Ja, man müßte die Lernenden vor solcher Lektüre geradezu warnen, da sie doch als Anleitung oder Verlockung zu der schlechten veralteten Orthographie zu- gelten hätte. Oder sollte man etwa die Schriften eines Kant, eines Goethe nun- mehr in der guten neuen Orthographie zur

zehige Unpferd über Nacht, einer wüßti- chen Lammie gehörten, in einen Ein- schenkel verwandelt, so wenig ist anzunehmen, daß das von Galliern und römischen Koloni- nisten in der Völkerwanderungszeit ge- schriebenen Latein durch Respekt ein- serwöngerkönige in Französisch ange- wandelt worden ist. Aber die Reform un- serer Rechtschreibung — durch Ächtung der Versalien, der Dehnungszeichen und der grammatischen Herkunftszeichen — soll auf Befehl, plötzlich und ohne innere Notwendigkeit durchgeführt werden, weil das eben „Fortschritt“ bedeuten würde. Wo bleibt da das Vorbild der Natur? Würde sich dieser von den Schriftreue- rern angestrebte Prozeß allmählich und mit einer geistigen Wandlung der Mensch- heit gleichzeitig vollziehen, dann gäbe es allerdings auch dafür Vorbilder. Sowohl in der Tier- und Pflanzenwelt als auch in der Menschheitsgeschichte gibt es Beispiele für Wandlungen, die nach der Tendenz der Höherentwicklung getragen sind, son- dern Regresse in primitive Frühformen darstellen. Doch das nennt weder der Bi- nger noch der Historiker Fortschritt. Man nennt es Entartung. —t—

Lektüre darbietend und so das ursprüngliche Druck- und Schriftbild verfälschend? Und das könnte doch nur in einer beschränkten Auswahl von Autoren und ihren Werken bestehen: wo und wie aber sollte diesem eklektischen Verfahren, das an und für sich verwerflich ist, die notwendige Grenze gezogen werden? Wenn auch zu- nächst versprochen wird, daß die ortho- graphische Revolution behutsam und maß- voll durchgeführt werden soll, so weiß man doch, daß Revolutionen sich nicht mit einem ersten Sprünge zu begnügen pflegen, sondern dann immer weiter springen wollen. Dabei kann es schließlich zu einem verhängnisvollen Bruch in unserer geistig- en Kultur, in zu ihrem Zusammenbruch kommen. Die Regelungen, die zur Zeit der Aufklärung Sprachmeister wie Gottsched und Adelung vorkommen, haben alsbald durch die Schriften eines Kant, eines Goethe sowie zahlreicher anderer Geistes- herren vollgültige Sanktion erhalten. Ihre Werke sind auch heute noch die festen Grundlagentexte, auf denen unsere geistige Kultur sich weiter entwickelt, und wir haben wahrlich keinen Grund, Schritte zu tun, die diesen Grundlagentexten stören oder gar nur verdunkeln können.

Eine der dringlichsten Forderungen, die heute gestellt werden, ist der Verzicht auf die Großschreibung. Man möchte sich nicht getrauen, die Großschreibung noch nicht gebräuchlich war und bei den anderen europäischen Kulturvölkern niemals ge- bräuchlich wurde. Sie begann im 17. Jahr- hundert und hatte zunächst eine mehr psychologische Funktion, indem sie stark gebrauchte Wörter gelegentlich aus- zeichnete. Dann waren es im 18. Jahr- hundert eben Gottsched und Adelung, die ihre logische Funktion zur Hervorhebung der Hauptwörter festlegten. Damit war aber doch auch ein nicht zu unterschätzender Vorteil gewonnen, denn so vermag das Schriftbild einen raschen Überblick über das Satzgebilde zu vermitteln und die Auf- fassung des Gedankenzusammenhanges zu erleichtern. Als Nachteil wird empfunden, daß man in ununterbrochenen Zeilen groß oder klein zu schreiben ist; aber soll das nun ausschlaggebend sein? Könnte man nicht sogar stillschweigend zugeben, daß in ge- schriebenem Text so oder so geschrieben wird und geschrieben werden darf? Auch manche der Interpunktion regelnden Bestimmungen könnte vielleicht etwas wei- tergezogen gehalten werden, so daß die individuellen Gestaltung ein wenig auch nur geringer Spielraum bliebe.

Die Preisgabe der unserer Orthographie schaffenden historischen Züge zugunsten einer weitgehenden Simplifizierung muß abgewehrt werden. Die Vereinfachung ist wohl vor allem ein Anliegen des Schul- unterrichts. Dessen Bedürfnisse können aber nicht ausschließlich und auch nicht hauptsächlich maßgebend sein. Es ist auch weiter berechtigt noch zweckmäßig zu ver- langen, daß gerade das Erlernen der Rech- schreibung mit der denkbar geringsten Kopf- arbeit verbunden sein soll, als ob es sich gar nicht lohnte, darüber nachzudenken. Die schärfsten Proteste gegen die Reform kom- men herkömmlicherweise von seiten der Schriftsteller und Dichter, also der Persön- lichkeiten, für die Schrift und Sprache die kostbaren Werkzeuge zu künstlerischer Ge- staltung sind. Die Vertreter der Wissen- schaft sind an einer Reform unserer Ortho- graphie nicht interessiert, wohl aber ist ihnen sehr daran gelegen, daß das gesamte Schrifttum lebendig weiterwirken kann. Die Vertreter der Germanistik, denen die Pflege deutscher Literatur und Sprache heiligt, und als Gegenstand wissen- schaftlicher Forschung obliegt, können zu- mal vor einer überstürzten, eilfertigen Re- form nur warnen. Dabei wäre der Nutzen nur ein sehr geringer, daß das gesamte Schrifttum nicht wieder gutzumachenden Schädigungen hingegen ein sehr großes.

Univ.-Prof. Dr. Dietrich Kralik.

Es spricht: Der Historiker

Ihr soll nicht in den gewöhnlichen Vor- schlägen einer Vereinfachung der Rech- schreibung Stellung genommen werden — Ob für Ochs —, sondern nur zu den Be-

strebungen jener Wortbilderstürmer, die es für ausreichend halten, statt Vieh fi zu schreiben.

Für den Historiker besitzt die Entwick- lung der deutschen Rechtschreibung einen besonderen Reiz. Er erkennt in den alten Handschriften, in den Schriftzügen und in der Schreibweise den Charakter einer Periode, die Geistesrichtung einer Zeit. Der Schulzwang hat die Regelung der Ortho- graphie erfordert und an die Stelle von wohlgeordneten und zulässigen Varianten, von kleinen Freiheiten, die harte Norm ge- setzt, deren Vorteile unbestritten sind.

Auch die möglichst einfache Lautwieder- gabe, wie sie die extremen Vorschläge empfehlen, ist der Ausdruck eines Zeit- alters, der gewiß für das Jahr 1984, wie es Orwell voraussieht, gut passen könnte. In das Orwell-Jahr unsere bürgerliche Ortho- graphie mitzubringen, wäre eine offen- kundige Stilwidrigkeit.

Die Schreibweise eines Wortes läßt seinen Ursprung und seine Wandlungen erkennen, sie ist ein historisches Denkmal, das um Schutz bittet. Die radikalen Re- former, welche die Vergangenheit mit der Wurzel ausreißen möchten, wollen eine von ihnen erkannte Strömung unserer Zeit beschleunigen und bedienen sich hierzu eines Mittels von höchster Wirksamkeit. Die Ver- stümmelung des Wortbildes führt zur Ver- stümmelung des Wortes, und diese Be- schränkung entspricht der Forderung nach geistiger Beschränktheit, deren Vorteile in die Augen fallen. Wenn die Reformer ihren Willen durchsetzen, werden die kommen- den Geschlechter die alten Bücher nicht mehr lesen können, und die Leiter des Zukunftsstaates werden durch sorgfältige Auslese der Literatur, deren Übertragung in die neue Schreibweise gestattet wird, jene geistige Uniformität herstellen, welche die Verbreitung ihrer Heilslehre nur för- dern kann, denn die Gemüter werden durch die alten Denker, wenn ihre Schrift nicht mehr lesen können, nicht mehr beirrt werden. Darin liegt der große Nutzen der Reformvorschlüge. Die Beant- wortung, wenn dieser Nutzen zukommt, bleibt dem Leser überlassen.

Die radikale Reformbewegung gibt jenen recht, welche seit vierzig Jahren einen geistigen Rückgang wahrnehmen. Auf dem Gebiet der Rechtschreibung ist diese bei der studierenden Jugend, die oft in Selbsthilfe den Reformen vorgeht, am Verlust des Sprachgefühls — seit der Vernachlässigung der klassischen Sprachen an unseren Mit- telschulen — wahrzunehmen.

Die Enttönnung des in der Schrift liegen- den Kulturgutes wird von sehr geschulten und zielbewußten Leuten betrieben. Dring- lich wird es, das ABC-Schützen be- quem gemacht werden. Jung und alt ver- den sich des Nachdenkens und Nach- Denkens entziehen, weil die Möglichkeit, das schon einmal Gedachte zu lesen, ent- fällt. Der Kampf gegen das überlieferte Wissen, gegen das geistige Gut der Völker, wird siegreich beendet sein.

Der Zwang, Schreiben und Lesen zu lernen, ist gewiß ein Segen, aber es soll nicht vergessen werden, daß er auf Kosten des Gedankens geht. Wer noch Gelegen- heit hatte, in abgelegenen Tälern bäuerliche Alphabeten kennenzulernen, der mußte ihr unfähbares Gedächtnis, wie es sich bei Blinden ausgebildet ist, be- wundern. Die Alphabeten hatten im Kopf, was der Alphabet im Buch hat. Das stets gegenwärtige Wissen des Lesenden, welches tief in ihm die Gewohnheit reifen, die Fülle seiner Erinnerungen zum selb- ständigen Denken zu nutzen, wofür dem Leser Bücher einen bequemen, nicht immer vollen Ersatz bilden, werden verloren.

Die Schrift ist eine der größten Errun- genschaften des Erfindungsgeistes, sie bil- det den Trennungsstrich zwischen Ure- schichte und Geschichte. Die gesetzmäßige Einführung einer Schreibweise, die schon lange von Wälschinnen geübt wird, würde in der Entwicklung der Menschheit einen Trennungsstrich liefern, mit dem das dritte Reich der Halbalphabeten be- gänne.

Wenn es richtig ist, daß die Menschheit sich geistig auf dem Abstieg befindet, so

25X1

Page Denied

M o l e k ü l v e r b i n d u n g e n

(Vortrag, gehalten von Prof. Dr. Ketelaar, Amsterdam, im Rahmen der Chem. Phys. Gesellschaft in Wien am 14. VI. 55)

Nach der Meinung des Vortragenden beginnen die Schwierigkeiten, die bei der Behandlung dieses Themas immer wieder aufscheinen werden, schon bei der Definition, was man eigentlich unter einer Molekülverbindung versteht. Ganz allgemein kann man wohl sagen, daß man sich darunter eine solche chem. Verbindung vorstellt, die aus zwei oder mehreren Komponenten aufgebaut ist, wobei aber die spezifischen Eigenschaften der aufbauenden Molekülgruppen erhalten bleiben müssen. Viel anschaulicher wird dies, wenn man dazu einige Beispiele bringt.

Bei der Reaktion von Ammoniak mit Salzsäure zu Ammoniumchlorid z.B. kann man nicht von einer Molekülverbindung sprechen, weil durch den völligen Einbau des Wasserstoffs in das Radikal die Eigenschaften der Verbindung von denen der Komponenten grundlegend verschieden sind.

Äther und Salzsäure bilden zusammen schon eher eine Molekülverbindung; auch $\text{PBr}_3 + \text{Br}_2$ ergibt bei exothermen Verlauf der Reaktion eine Molekülverbindung, obwohl man aus Röntgenanalysen für den festen Zustand die Formel $(\text{PBr}_4)\text{Br}$ gefunden hat. Einen weiteren sehr interessanten Grenzfall stellt die Verbindung von Wasserstoff mit Jod dar.

Nach den neuesten Vorstellungen soll diese Reaktion mit dem Endprodukt Jodwasserstoff über einen aktiven Zwischenzustand verlaufen. Wie man aus theoretischen Überlegungen weiß, kann die Zahl der dafür in Frage kommenden Molekelpaare nur sehr gering sein (ungef. $10^{-10}/\text{cm}^3$) und auch die Zusammenstöße sollen nur ganz kurze Zeiten in Anspruch nehmen.

Trotzdem findet man aber, wenn man das Infrarotspektrum untersucht, eine neue Bande, die weder in dem Spektrum der einen noch in dem der anderen Komponente enthalten ist. Ähnliche Ergebnisse hat man auch schon bei den Reaktionen von CO_2 mit Sauerstoff, Wasserstoff und Stickstoff gefunden. Die dabei verwendeten Drucke waren für CO_2 40 Atm. und für Sauerstoff z.B. 80 Atm. und die neue Bande hatte eine Frequenz ν , die sich als Summe von ν_{CO_2} und ν_{O_2} herausstellte. Bei dieser Erscheinung spricht man von einem simultanen Übergang in den Schwingungszuständen. Da die "Stoßzeiten" nur sehr klein sind und die Konzentration der Molekelpaare von der Dichte abhängt, kann es sich keineswegs um ein thermodynamisch stabiles Molekelpaar handeln. Es findet vielmehr nur Absorption statt und zwar dann, wenn die Dipolmomente der Stoßpartner variabel sind. Im vorliegenden Beispiel des CO_2 nimmt man an, daß die

- 2 -

Molekel eine asymmetrische Schwingung ausführen und das induzierte Dipolmoment gegeben ist durch

$$\mu = \alpha \cdot F = \left(\alpha_0 + \frac{d\alpha}{dx_e} \cdot x_e \right) \left(F_0 + \frac{\partial F}{\partial q_k} \cdot q_k \right)$$

Die wesentlichen Terme dieses Dipolmoments sind zwei periodische Funktionen $\frac{d\alpha}{dx_e}$ und $\frac{\partial F}{\partial q_k}$, die sich in zwei Ausdrücke aufspalten lassen mit $\nu_{\text{CO}_2 + \nu_{\text{O}_2}}$ und $\nu_{\text{CO}_2} - \nu_{\text{O}_2}$. Die theoretische Behandlung dieses Phänomens läuft demnach teilweise parallel mit dem Ramaneffekt. Das Zustandekommen von Stoßpaaren an und für sich bildet nun das Kernproblem aller weiteren Überlegungen, denn man nimmt an, daß es sich dabei um jenen Zwischenzustand handelt, über den jede chemische Reaktion verläuft. In dem speziellen Fall der Wechselwirkung von CO_2 und O_2 , bzw. N_2 und auch H_2 hat man bereits eine experimentelle Möglichkeit gefunden, Aussagen über die Intensität der Spektrallinien (Anisotropie des Stoßes) und die Abhängigkeit von der Temperatur zu machen. Aus der Wechselwirkung kann man auch Abschätzungen über die Zahl der Stoßpaare als Funktion der Abstände machen, wobei man für die Berechnung der Konzentration der Stoßpaare K genau denselben Ansatz zugrunde legt wie im Falle eines chemischen Gleichgewichtes:

$$K = \frac{[\text{CO}_2] + [\text{O}_2]}{[\text{CO}_2] \cdot [\text{O}_2]}$$

Durch kinetische oder statistische Betrachtungsweise erhält man ferner folgende Ausdrücke:

$$\text{für die Zahl der Zusammenstöße } Z = n_A \cdot n_B \cdot \tau \cdot \sigma_{AB}^2 \cdot \bar{v},$$

wobei n_A = Zahl der Molekel des Stoffes A pro cm^3

n_B = dasselbe für Stoff B

σ_{AB} = Stoßdurchmesser für die Stoffe A und B

$\bar{v}$ = relative Geschwindigkeit

und die Zeit eines solchen Zusammenstoßes, oder besser die Lebensdauer eines solchen Stoßpaares

$$\tau = \frac{\vartheta}{\bar{v}} \quad \text{ungef. } 10^{-10} \text{ bis } 10^{-11} \text{ Sekunden}$$

ϑ = Wechselwirkungskonstante, in der Größenordnung von 2 bis 4 Atomradien.

Mit diesen Formeln ist die Vorstellung über den Ablauf eines Stoßvorganges essentiell richtig wiedergegeben; für die Zahl der auftretenden Stoßpaare ergibt sich daraus

$$n_{AB} = Z_{AB} \cdot \tau = 4 n_A \cdot n_B \cdot \tau \cdot \sigma_{AB}^2$$

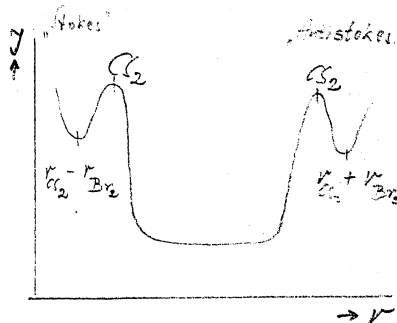
$$\text{und für } \vartheta = \frac{1}{2} \sigma \dots \dots \dots K = \frac{n_{AB}}{n_A \cdot n_B} = 2 \pi \sigma^3$$

Für die Reaktion zwischen CO_2 (30 Atm.) und N_2 (100 Atm.) konnte der

- 3 -

Vortragende auch Zahlenwerte anführen: für die angegebenen Drucke wäre bereits für 50% der vorhandenen Molekel der gegenseitige Abstand nur mehr in der Größenordnung eines halben Stoßdurchmessers σ , das entspricht etwa 20 Å.

Auch für flüssige Mischungen (z.B. CS_2 und Br_2) sind solche Untersuchungen mit positiven Resultaten bekannt. Bei gleicher Molekelanzahl beider Komponenten lagen die verwendeten Schichtdicken bei ca 1 cm. Auch hier war es nicht möglich, die neu auftretenden Banden dem Spektrum einer der beiden Komponenten zuzuordnen; vielmehr ergab sich in allen Fällen die Möglichkeit einer Kombination von Wellenlängen beider Molekülarten. Die Anordnung der neuen Linien, die bei diesem Absorptionseffekt auftreten, liegt gerade umgekehrt zu der im Raman-effekt gefundenen (Emission). Diese Linien konnte man aber nur dann wahrnehmen, wenn die miteinander zur Reaktion gebrachten Komponenten in Schichtdicken von 5 bis 10 mm noch durchlässig waren, was im Falle des CS_2 und Br_2 recht gut erfüllt war. Bei stärker absorbierenden Substanzen bekommt man keinerlei neue Linien im Spektrum; aber in den meisten Fällen liegt ein komplettes Ramanspektrum vor, nur sind eben hier die neu hinzukommenden Frequenzen nicht um die Frequenz einer Quecksilberlinie verschoben, sondern beispielsweise um 1515 cm^{-1} im Falle des CS_2 .



Die eigentlichen Molekülverbindungen teilt man nun am besten in folgende 3 Gruppen ein:

- 1) Verbindungen, die durch Wechselwirkung hauptsächlich von Dipolkräften gebildet werden (z.B. Wasserstoffbrücken bei Hydraten, Alkoholaten u.a.)
- 2) Geometrische Komplexe, bei denen die Bindung durch günstige geometrische Anordnung zustande kommt (dichteste Packung etc.)
- 3) Bindungen, bei denen Elektronenübertragung stattgefunden hat.

Zur Gruppe der geometrischen Komplexe gehören auch die Herznstoffmolekel, die durch Wasserstoffbrücken zusammengehalten werden. Aus Untersuchungen von Schlenk und anderen weiß man, daß die aus einer Lösung gezüchteten Kristalle hexagonales Gitter mit einer Schraubenachse aufweisen und im Inneren lange Kanäle haben, in die Kohlenwasserstoffketten eingebaut werden können. Wie sich aber später herausstellte, können nicht beliebige verzweigte Ketten eingelagert werden (wegen der Schraubenachse),

- 4 -

womit man eine Möglichkeit in die Hand bekommen hat, eine Trennung von normalen und iso-Kohlenwasserstoffen durchzuführen.

Aus der Kenntnis der Winkel der Kohlenstoffatome untereinander und ihrer Abstände in einer eingelagerten Kette und aus der Struktur des Harnstoffes ist man in der Lage, ein Verhältnis zwischen der Zahl der Harnstoffmolekel und der Anzahl der C-Atome des Kohlenwasserstoffs zu geben: auf 11 Å Länge des Kohlenwasserstoffs mit CH_3 -Gruppen im Abstand von 1,54 Å müssen demnach 6 Harnstoffmolekel angeordnet sein.

Auch schon in Lösung kommt es, wie aus Spektraluntersuchungen eindeutig hervorgeht, zu einer spezifischen Wechselwirkung zwischen Harnstoff und Kohlenwasserstoffen; Untersuchungen mit Valeriansäure ergaben, daß sich die Löslichkeit bei normaler und iso-Valeriansäure nur ganz unwesentlich ändert. Verwendet man in einem anderen Fall ein racemisches Gemisch von Alkohol und läßt den Harnstoff, nachdem man einen kleinen Impfkristall eingeführt hat, auskristallisieren, so zeigt sich, daß dieses Gemisch nach der Auflösung nicht mehr racemisch, sondern optisch aktiv geworden ist. Auf diese Weise kann man nunmehr auch auf ganz einfachem chemischen Wege eine Trennung von Alkoholen durchführen, wenn sie eine Links- bzw. eine Rechtsschraube in ihrer Gitterstruktur besitzen.

In diese Gruppe der Molekülverbindungen gehören auch die Gashydrate, von denen Davy besonders die Chlorhydrate analysiert hat. Es wurden auch Verbindungen des Eises mit verschiedenen flüchtigen Substanzen (Cl, Br, auch Edelgase) untersucht, wobei die Deutung der aufgenommenen Röntgendiagramme ausschließlich auf Grund der bereits bekannten Gittertypen erfolgen konnte. In einigen Fällen kam dabei zu noch unbekannten, oftmals sehr verwickelten Strukturen des "gebundenen Eises", die unter anderen Versuchsbedingungen bisher noch nicht hergestellt werden konnten. Mit Hilfe dieser Analysen ist es ferner möglich geworden, Aussagen über die ideale Zusammensetzung eines Komplexes, der H_2O enthält, zu machen. Entweder handelt es sich um eine kubische Zelle mit 46 Molekel H_2O und 8 Hohlräumen für kleinere Moleküle ($\frac{46}{8} = 5\frac{3}{4} \text{H}_2\text{O}$) oder mit nur 6 Hohlräumen für etwas größere Moleküle (ungef. 8 H_2O). Bei einer Zelle mit 136 Wassermolekeln gibt es wieder 8 Hohlräume; es werden also 17er-Hydrate gebildet. Die kleinsten existierenden Molekel bilden keine Hydrate, weil sie die zur Verfügung stehenden Hohlräume nicht zur Gänze ausfüllen könnten, während für die größten Molekel die Hohlräume wieder zu klein sind.

Am Ende seiner Ausführungen brachte der Vortragende noch ein paar Beispiele für Molekülverbindungen, die durch Elektronenübertragung zustande kommen. Bei der Reaktion von BF_3 mit NH_3 kann man von einer

- 5 -

Elektronenübertragung sprechen, weil eine gleichmäßige Verteilung der beiden freien Elektronen des Stickstoffs auf B und N erfolgt. Allerdings liegt hier bereits im Grundzustand bei BF_3 ein Sextett vor. Bei Jod hingegen ist im Grundzustand noch kein Sextett, das für eine Elektronenbindung z.B. mit dem Stickstoffkomplex Pyridin nötig wäre, vorhanden (Abb. a) und man muß im Falle einer Reaktion annehmen, daß das

gebundene Jod dort in einem Zustand höherer Energie eine andere Elektronenkonfiguration aufweist, bei der dann eine Elektronenübertragung stattfinden kann (Abb. b). Schon rein äußerlich erkennt man die Verbindungsbildung an dem Farbumschlag von violett (Jod im Grundzustand) nach braun. Diese Farbänderung ist

aber keineswegs als allgemein bekannter Lösungsmittелеffekt anzusprechen, denn es genügt bereits ein ganz geringer Zusatz von Pyridin zu einer sehr verdünnten (CCl_4 als Lösungsmittel z.B.) Jodlösung, um diesen Farbumschlag hervorzurufen. Außerdem ist Jod in diesem höheren Energiezustand elektrisch leitend und, obwohl beide Ausgangskomponenten keine Dipolmomente besitzen, zeigt die Molekülverbindung, daß infolge der Elektronenübertragung ein Dipolmoment ausgebildet worden ist. Wie sich aus Spektraluntersuchungen weiter ableiten läßt, erfolgt bei dieser Reaktion nicht nur eine Stabilisierung des Grundzustandes, sondern man bekommt auch eine neue Absorptionsbande im Ultravioletten (2600 eV). Ähnliche Verbindungen mit Pyridin oder Dioxan kennt man auch von Br, Cl und anderen Elementen und man hat nun für alle diese Beispiele eine neue Methode damit kennen gelernt, Gleichgewichtskonstanten auf spektrometrischem Wege zu bestimmen. Die dabei vorkommenden Bindungsenergien betragen für eine Bindung mit Sextett im Grundzustand 10 bis 100 Cal, in einem höheren Energiezustand nur 1 bis 10 Cal. Die Entropieänderung ist dabei immer konstant, d.h., die freien Energien laufen genau so wie die Wärmetönungen. Obwohl die Bindungsanteile im Zustand höherer Energie (bei Pyridin z.B. 2%, bei Dioxan 15-20%) und auch die Bindungsenergien nur sehr gering sind, erhält man doch ganz deutlich neue Linien im Spektrum. Es muß sich daher um einen starken Einfluß der Lichtabsorption infolge tiefergreifender Wechselwirkung der Elektronen bei flüssigen Mischungen handeln.

Aus diesem Grunde konzentriert man sich heute überhaupt mehr auf Spektraluntersuchungen von Lösungen und nicht von Festkörpern, weil man dort nicht immer sicher ist, ob die geringen Energien für eine Verbindungsbildung ausreichen und ob sich, wenn es doch zu einer Verbindung kommen sollte, spezifische Wechselwirkungen ausbilden werden.

- 6 -

Zusammenfassend kann man also sagen, daß mit Hilfe von Spektraluntersuchungen von Molekülverbindungen in allen Aggregatzuständen ein weites Gebiet für die Erforschung des Reaktionsverlaufes an und für sich eröffnet wurde, daß sich aber darüber hinaus für viele speziellere Teilgebiete, beispielsweise für neue Trennungsvorfahren, Strukturanalysen, Bestimmungen von Gleichgewichtskonstanten oder idealen Zusammensetzungen, neue Möglichkeiten zeigen, die dem modernen Naturwissenschaftler ganz wesentliche Einblicke in den Aufbau der Materie gewähren können.

25X1

Page Denied

T ä t i g k e i t s b e r i c h t

Mai - Juni 1955

Die Versuche zur Herstellung von metallischem Titan werden in zwei verschiedenen Richtungen fortgesetzt. Als nichtwässriges Lösungsmittel für TiCl_4 wurde Pyridin sowie Pyridin und LiCl verwendet. Es bilden sich während der Elektrolyse feinteilig metallisch aussehende Körper, die jedoch auch nach einer Temperung bei 800°C in Vakuum keinen Nachweis für Titan ergaben.

Die Umsetzung von TiCl_4 mit $\text{Na}+\text{H}_2$ in der elektrischen Entladung wurde mit einer tellerförmigen Na-Elektrode mit rd. 50 cm^2 Oberfläche durchgeführt. Die Entladung geht glatt vor sich. Die Energiebilanz ist viel günstiger als im Zweistufenprozeß - Herstellung - von TiCl_2 und nachgeschalteter Reduktion. Das angefallene Titan war jedoch zu feinteilig, so daß seine Ausbringung unter den gegebenen Umständen noch nicht befriedigend gelang (Rückoxydation).

Weitere Versuche betreffen die Reduktion von VCl_4 im elektrischen Lichtbogen zu VCl_3 sowie Überführungsmessungen in Lösungen von AsCl_3 . Die Ergebnisse der Elektrolyse bestätigen die Ansicht, daß $(\text{CH}_3)_4\text{NCl}$ in AsCl_3 -Lösungen gemäß $(\text{CH}_3)_4\text{N}^+$ - und AsCl_4^- - Ionen dissoziiert ist.

I. Orientierende Versuche über das Verhalten nichtwässriger Lösungen des Titanetetrachlorids bei der Elektrolyse:

Seinerzeit wurde bereits berichtet, daß bei orientierenden Versuchen die elektrolytische Abscheidung von Titan-Metall aus Lösungen des Tetrachlorids in Methylalkohol, Acetonitril und Formamid nicht geglückt ist¹⁾. Ebenso wenig läßt sich Titan aus Lösungen von Titanetetrabromid in Tetraäthylammoniumbromid abscheiden²⁾. Keyes und Swann²⁾ bezeichnen auch die Versuche der elektrolytischen Reduktion des Titanetetrachlorids in Aceton, Glycerin und Pyridin als ergebnislos.

Es wurde daher zunächst versucht, salzartige Komplex-Verbindungen des Titanetetrachlorids herzustellen, die bei relativ niedriger Temperatur schmelzen. Solche bisher allerdings ergebnislose

-2-

Versuche mögen kurz erwähnt werden: Es erwies sich das bei der Reaktion von Tetramethylammoniumchlorid und Titan-tetrachlorid in Arsen-trichlorid entstehende Tetramethylammoniumhexachlorititanat³⁾ unterhalb 350° als unschmelzbar.

Desgleichen haben wir die von Dermer und Fernelius⁴⁾ beschriebene, aber nicht näher charakterisierte Verbindung der Zusammensetzung $(C_5H_5N)_2 \cdot TiCl_4$ durch Umsetzung der beiden Komponenten dargestellt. Die Verbindung blieb ebenfalls unterhalb 350° fest und sublimierte ohne Zersetzung im Vakuum erst bei höherer Temperatur.

Bekanntlich kann Pyridin in Arsen-trichlorid mit verschiedenen Tetrachloriden reagieren⁵⁾. Mit Titan-tetrachlorid entsteht dabei, wie wir jetzt gefunden haben, eine hellgelbe Verbindung, die Titan, Pyridin und Arsen im Verhältnis 1:2:2 enthält und wahrscheinlich als $(C_5H_5N \cdot AsCl_2)_2 \cdot TiCl_6$ zu formulieren sein dürfte. Auch diese Verbindung schmilzt oberhalb 350° .

Es wurde nun dazu übergegangen, derartige Stoffe in wasserfreiem Pyridin aufzulösen. Pyridin wurde mehrere Tage über Kaliumhydroxyd aufbewahrt und unmittelbar vor Gebrauch zweimal über Kaliumhydroxyd unter Ausschluß von Feuchtigkeit fraktioniert. Schon bei tropfenweiser Zugabe von Titan-tetrachlorid erfolgt lebhaftere Reaktion, wobei die Lösung gelb wird und ein gelber Körper von der Zusammensetzung: $(C_5H_5N)_2 \cdot TiCl_4$ auszufallen beginnt. Durch zusätzliches Erwärmen war es möglich, etwa 0,8 g $TiCl_4$ in 30 g Pyridin zu lösen, d.i. etwa 26 g $TiCl_4$ in 1000 g Pyridin. Die Leitfähigkeit einer solchen gesättigten Lösung betrug bei 20° $2,5 \cdot 10^{-3} \text{ Ohm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.

Zur Elektrolyse haben wir ein U-förmiges Gefäß verwendet, in dessen Schenkel eine Kupfer-Elektrode und eine Kohle-Elektrode eingeführt waren. Zutritt von Luftfeuchtigkeit wurde verhindert. Die Kupfer-Elektrode wurde als Kathode, die Kohle-Elektrode als Anode geschaltet. Die Eintauchtiefe der zylinderförmigen Elektroden betrug etwa 5 cm. Schon beim Einbringen der Kupfer-Kathode entstand an dieser eine geringe Menge eines sehr feinteiligen, hellbraunen Körpers, der langsam zu Boden sank. Kupfer vermag also Titan-IV-chlorid zu einer niederen Wertigkeitsstufe in Pyridin zu reduzieren, ähnlich, wie dies früher schon in anderen Lösungen beobachtet wurde. Die von Zeit zu Zeit gekühlte Zelle wurde mit 110 V und etwa 21 mA sowie 440 V und 80 bis 90 mA betrieben. Nach etwa 30 Minuten wurde abgeschaltet, die Kathode herausgenommen, wobei der an ihr haftende braune Niederschlag sofort weiß wurde. Dieser war in Wasser unlöslich. Nach dem Lösen in Salzsäure konnte Ti in ihm nachgewiesen werden. Durch

-3-

Lösen in Salpetersäure wurde eine Lösung hergestellt, in der auf Chlor geprüft und dessen Anwesenheit erwiesen wurde. Offenbar hatte sich ein niederwertiges Titanchlorid, bzw. eine Verbindung eines solchen mit dem Pyridin gebildet.

Wir haben dann versucht, durch Zusatz von Lithiumchlorid einerseits die Leitfähigkeit der Lösung zu erhöhen und andererseits die in Pyridin bekannte Möglichkeit der Abscheidung metallischen Lithiums⁶⁾ auszunützen, um durch Sekundärreaktion der Lösung mit diesem Titan-Metall abzuscheiden. Bei Verwendung einer Kupfer-Kathode war es aber auch in diesem Falle nicht möglich, metallisches Titan zu erhalten (110 V und etwa 40 mA). An der Kathode war überhaupt keine, an der Anode schwache Gasentwicklung zu beobachten. Im Verlaufe der Elektrolyse schied sich an der Elektrode ein dunkler Körper ab, der sich von der Elektrode ablöste. Nach Versuchsende wurde die Lösung im Stickstoffstrom filtriert und der zurückbleibende schwarze Rückstand mit Wasser gewaschen. Er blieb darin unlöslich, wurde aber braun. Einerseits begünstigt die Gegenwart der Kupfer-Elektrode die Bildung eines unlöslichen, nichtmetallischen Reduktionsproduktes, andererseits ist es möglich, daß allfällig entstandenes sehr feinteiliges Titan durch das nasse Aufbereitungsverfahren umgesetzt wird.

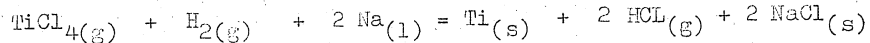
Diese Versuche wurden deshalb unter Verwendung einer Kohle-Kathode und Kohle-Anode wiederholt. Die hellgelbe Elektrolytlösung enthielt 0,7 g Titantetrachlorid und 0,2 g Lithiumchlorid in 25 g Pyridin. Ihre Leitfähigkeit betrug bei 60° $1,5 \cdot 10^{-3} \text{ Ohm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Weder kathodisch, noch anodisch entstanden Gase. Bei 110 V betrug der Zellenstrom 70 bis 80 mA, bei 220 V 160 bis 200 mA. Auf diesem Wege konnte man auch höhere Stromdichten erreichen. Unter Kühlung wurde etwa 40 Minuten lang bei 220 V elektrolysiert, wobei die Lösung dunkelbraun wurde und an der Kohle-Kathode ein schwarzer Körper haften blieb. Zur Abtrennung von anhaftendem Elektrolyten wurde die Elektrode rasch in eine Quarzröhre eingebracht, diese an die Hochvakuumpumpe angeschlossen und etwa 30 Min. auf etwa 800° erhitzt. Pyridin, sowie die TiCl_4 -Pyridin-Verbindung waren unter diesen Bedingungen flüchtig. Dicht oberhalb der Erhitzungszone schied sich ein dünner Metallspiegel in der Quarzröhre ab (vermutlich metallisches Lithium). Es blieb ein schwarzer, spröder, sehr feinteiliger, metallisch aussehender Körper zurück, der sich von der Elektrode leicht ablösen ließ. Dieser wurde im Vakuum bei 800° 24 Stunden getempert.

-4-

Die röntgenographische Prüfung solcher Niederschläge ergab jedoch, daß kein metallisches Titan vorliegt.

II. Die Herstellung von Titanmetall in der elektrischen Entladung über Natrium-Elektroden (Einstufenverfahren).

Die seinerzeit ausgeführten Versuche über die Reaktion:



haben gezeigt, daß unter Verwendung einer napfförmigen Natrium-Elektrode in einem großen kugelförmigen Entladungsgefäß Titan-Metall entsteht. Bei diesen Versuchen wurde zunächst festes Natrium verwendet, das erst im Verlaufe der Reaktion langsam und nur teilweise zum Schmelzen kam. Die Verkrustung der Natrium-Oberfläche durch entstehendes Titan führte zu baldigem Stillstand der über das Dichlorid hinausgehenden Reduktion. Es wurde nunmehr das bisher zur Untersuchung des Zweistufenverfahrens verwendete Eisengefäß entsprechend umgebaut und Versuche mit einer flüssigen Natrium-Elektrode ausgeführt um dabei die energetischen Verhältnisse bei größeren Durchsätzen zu studieren.

Da sich schon bei den Versuchen am Zweistufenverfahren ergab, daß die Eisen-Spindel des Reduzierventils durch die Titan-IV-chlorid-Dämpfe korrodiert wurde und dadurch namentlich bei Erwärmung des Reduzierventiles schwer regulierbar wurde, haben wir diese durch eine Messing-Spindel ersetzt. Sie war mittels Asbestschnur und Graphit in der Stopfbüchse D_2 abgedichtet.

Die Anordnung ist in Abb.1 dargestellt. Als Kathode diente ein Eisenteller T, dessen etwa 10 mm hohe Ränder ~~z~~nailliert waren. Sein Durchmesser betrug etwa 9 cm. Er diente zur Aufnahme des Natriums und konnte mittels Schraubengewinde mit dem bei A hindurchgeführten metallischen Hohlzylinder HZ verbunden werden. Unmittelbar unterhalb der Tellerelektrode befand sich eine Heizplatte HP, deren Drahtverbindungen zur Stromquelle gut isoliert innerhalb HZ verliefen und an dessen unteren Ende vakuumdicht verkittet waren. HZ wurde mit der Erde verbunden, so daß die Natriumelektrode T als Kathode fungierte, während die Hochspannung an die Messingelektrode angelegt wurde. An Stelle von M war bei M_1 eine Zuführung mit Hahn angebracht, die die jeweilige Spülung des Reaktionsraumes mit Inertgas ermöglichte.

-5-

Nachdem alle Teile vakuumdicht aneinandergefügt worden waren, wurde die sorgfältig im Vakuum getrocknete Anordnung mit trockenem Stickstoff (über M_1) gefüllt, sodann der obere Teil B samt C, D, G und H abgenommen und etwa 20 g. blankes Natrium-Metall auf die Teller-elektrode T eingebracht. Sodann wurde der obere Teil aufgesetzt und festgeschraubt, bei geschlossenem M_1 und geschlossenem Ventil D evakuiert und mittels HP das Natrium im Vakuum geschmolzen. Sodann wurde wasserfreies Titan-tetrachlorid in strömendem sauerstofffreien Wasserstoff in G eingefüllt, verschlossen und nach geringfügigem Öffnen von D der Bogen gezündet. Dabei kamen uns die Erfahrungen der vorhergegangenen Versuche sehr zustatten, deren Beachtung auch in diesem Falle unerlässlich war. Erst nach 2 bis 3 Minuten wurde der Titan-IV-chlorid-Wasserstoff-Strom verstärkt und nach weiteren 2 Minuten durch Erwärmen des Sättigers G und der Messingzuführung D eine größere Menge Titan-IV-chlorid der Entladung zugeführt.

Bei einem Elektrodenabstand von 10 mm brannte von der Anode ein violetter Bogen, dessen Farbe zur Kathode in intensives Gelb überging. Das Gasgemisch trat also zunächst durch eine Entladungszone, die von der Wasserstoffentladung bestimmt wurde und unmittelbar dahinter in die entsprechende Mengen Natriumdampf enthaltende Zone. Der Bogen brannte ruhig und kegelförmig auf das flüssige Natrium, welches allerdings von einer dünnen Oxydschicht bedeckt ist. Von der relativ großen Kathodenoberfläche (etwa 50 cm²) wurden etwa 2 % vom Bogen bestrichen. Den Versuchsverlauf gibt die Tabelle 1 wieder.

Nach Versuchsende (Erkalten) wurde bei M_1 trockener Stickstoff eingelassen, der Oberteil nach dem Lösen der Schraubverschlüsse entfernt und der Teller von HZ abgeschraubt. Die Oberfläche war von einer schwarzen Kruste so geschlossen bedeckt, daß zunächst überhaupt keine Reaktion mit Methanol erfolgte. Erst nach dem Zerteilen des noch viel Natrium enthaltenden Kuchens mit einer großen Spatel reagierte das Methanol mit dem Metall. Nach Auslaugen mit verdünnter Salzsäure und Wasser wurde der unlösliche schwarze Rückstand, der teilweise kolloidalen Charakter hatte und unfiltrierbar war, soweit als möglich über eine Sinterplatte abgesaugt und getrocknet.

-6-

Tabelle 1 Auszug aus den Versuchsprotokollen

Versuch Nr.123 (Elektrodenabstand 10 mm) Einsatz: 19 g TiCl_4 .					
Zeit Min.	Spannung Volt	Strom mA	Druck Torr	Strö- mungs- geschw. (1/h)	Beobachtungen
0	300	60	7	18	schmäler, violetter Bogen tritt fast punktförmig auf
4	400	50	8	30	
9	500	35	8	37	
11	500	35	9	38	schwarze Verkrustung an der Natrium-Oberfläche sichtbar
14	500	80	9	36	auch Messing-Anode mit schwar- zen Nadeln bedeckt.
18	500	80	8	35	Bogen brennt konstant in schmalen Kegel.
20	500	80	8	35	
22	500	80	8	35	auch im Tellerrand schwarze feste Teilchen abgesetzt.
24	400	80	8	35	geringe Mengen von TiCl_2 in der Kühlfalle
					Abnehmen der Spannung zeigt erfolgten Umsatz an
30	300	95	12	40	Ende

In der Kühlfalle befand sich nicht umgesetztes Titan-tetrachlorid und etwas Titandichlorid. Ihre Summe entsprachen 6,15 g Titan-tetrachlorid. Es wurden daher 12,5 g Titan-chlorid umgesetzt, allerdings nicht völlig zu Metall; ein geringer Teil war nur zu Titandichlorid reduziert. Das dabei entstehende Metall ist aber so feinteilig, daß es beim naßen Aufbereitungsverfahren sichtlich chemisch verändert wird. Vor allem bei Zusatz von verdünnter Salzsäure tritt rasch Oxyd-bildung ein. Das so isolierte Produkt zeigte im Röntgendiagramm kei-ne Titan-Linien, sondern die aufgefundenen Linien sind möglicherweise einer noch unbekannten TiCl_2 -Methanol-Verbindung oder deren Zerset-zungsprodukte zuzuschreiben.

Gelingt es das entstehende Metall unter günstigen Bedingungen zu isolieren, dann würde dies wegen des viel geringeren Aufwandes an

-7-

elektrischer Energie gegenüber dem Zweistufenverfahren ein großer Vorzug sein. Offenbar verhindert die Flüssigkeitselektrode die Ausbildung schlecht leitender Schichten an den Elektroden, die bei festen Elektroden höhere Spannungen zur Aufrechterhaltung des Bogens erforderlich machen.

Diese Versuche werden fortgesetzt.

III. Die Reduktion einiger flüchtiger Chloride unter den Bedingungen der elektrischen Entladung:

Unter den Bedingungen der elektrischen Gasentladung werden z.B. Titan-tetrachlorid durch Wasserstoff zu Titan-dichlorid⁷⁾ oder Phosphor-trichlorid teilweise zu rotem Phosphor reduziert⁸⁾. Es wurde nun gefunden, daß aus Vanadin-tetrachlorid unter sonst gleichen Bedingungen im wesentlichen Vanadin-trichlorid entsteht. Dieses enthält gelegentlich kleine Mengen Vanadin-dichlorid und möglicherweise etwas adsorbiertes Vanadin-tetrachlorid.

Vanadin-tetrachlorid wurde durch Chlorierung von Vanadinpulver gewonnen. Die experimentelle Anordnung und Durchführung der Versuche erfolgte ebenso, wie an anderer Stelle beschrieben^{7,8)}. Das Reaktionsprodukt, das sich an den Glaswänden der Entladungsröhre abgesetzt hatte, wurde in Salpetersäure gelöst, wobei durch Oxydation eine hellblaue Lösung entstand, in der sich einige an die Oberfläche steigende hellgrüne Teilchen befanden. Letztere dürften aus Vanadin-dichlorid bestanden haben. Chlor wurde auf gravimetrischem Wege bestimmt. Ein Teil der Lösung wurde eingedampft, in Schwefelsäure aufgenommen und Vanadin durch Titration mit KMnO_4 bestimmt. Durch nachfolgende Reduktion mit SO_2 und Verkochen des letzteren konnten mit ein und derselben Probe eine größere Anzahl von Vanadinbestimmungen vorgenommen werden. (Gef.: V 33,1, 32,8, 32,9%; Cl 66,8, 66,6%; ber. für VCl_3 : V 32,4% Cl 67,6%)

Aus Gemischen von Wasserstoff und Arsentrichlorid, bzw. Zinn-tetrachlorid oder Antimonpentachlorid wurden die entsprechenden Elemente meist zunächst in Form eines schwarzen, an den Glaswänden der Entladungsröhre festhaftenden Metallspiegels abgeschieden. Die darin enthaltenen, geringfügigen Chloridmengen sind auf Adsorption, möglicherweise von entstehendem Chlorwasserstoff, wahrscheinlich aber von nicht reduziertem Metallchlorid zurückzuführen.

-8-

Im Falle des Arsens dürfte es sich um adsorbiertes Arsentrichlorid handeln, da dieses beim Erhitzen des Reaktionsproduktes im Vakuum oberhalb 370° abgegeben wird, wobei Cl-freies Arsen zurückbleibt. Die von Besson und Fournier⁹⁾ vermutete Verbindung der Zusammensetzung $As_{11}Cl$, die sie bei der stillen elektrischen Entladung eines Gemisches von Arsentrichlorid und Wasserstoff erhalten haben wollen, konnte nicht bestätigt werden. Der Chloridgehalt ist niedriger, als er für obige Zusammensetzung zu erwarten wäre und wechselt überdies von Versuch zu Versuch. Das Röntgendiagramm zeigt eindeutig, daß es sich um metallisches Arsen handelt. Auch die Abgabe von $AsCl_3$ im Vakuum bei höherer Temperatur steht mit einem Adsorptionseffekt im Einklang.

Arsentrichlorid, Zinntetrachlorid und Antimonpentachlorid wurden durch Destillation im Vakuum gereinigt. Die festen Reduktionsprodukte wurden jeweils analytisch und röntgenographisch untersucht. Das Reduktionsprodukt des Arsens enthielt in 3 verschiedenen Versuchen 2,4 bzw. 1,7 und 2,9% Cl, nach dem Erhitzen im Vakuum blieb Cl-freies Arsen zurück, dessen Röntgendiagramm mit dem des chloridhaltigen Produktes identisch war.

IV. Überführungsmessungen in Lösungen von Arsentrichlorid:

Vor kurzer Zeit wurde gezeigt, daß in wasserfreiem Phosphoroxychlorid das positive Solvens-Ion, das $POCl_2^+$ -Ion eine relativ hohe Überföhrungszahl besitzt. Eine Ausdehnung der Untersuchungen auf das negative Solvens-Ion schien wegen der Schwerlöslichkeit aller bisher bekannten basischen Stoffe des Solvosystems Phosphoroxychlorid nur schwer möglich zu sein.

Nachdem Andersson und Lindquist¹⁰⁾ durch potentiometrische Messungen in flüssigem Arsentrichlorid gezeigt haben, daß man in diesen Solvens von einer Chloridionenkonzentration sprechen kann, haben wir die Untersuchung der Überföhrungszahlen basischer Elektrolyte in flüssigem Arsentrichlorid in Angriff genommen. Diese Arbeit sollte umso mehr eine Lücke ausfüllen, als schon lange bekannt ist, daß in geschmolzenem Antimon-III-chlorid das Chlorid-Ion in den Lösungen von Kaliumchlorid und Ammoniumchlorid ebenfalls relativ hohe Überföhrungszahlen besitzt¹¹⁾.

-9-

Reinigung der Ausgangsstoffe:

- a) Arsenrichlorid. Das käufliche Präparat wurde zweimal unter Ausschluß von Feuchtigkeit fraktioniert destilliert, wobei die zwischen $129,9^{\circ}$ und $130,2^{\circ}$ übergehende Fraktion aufgefangen wurde. Die Leitfähigkeit derselben betrug bei 20° : $3 \cdot 10^{-7} \text{ Ohm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$, also nahe dem von Lindquist und Andersson¹²⁾ angegebenen Wert, so daß sich die seinerzeit empfohlene Destillation über Natrium im Vakuum der Ölpumpe als nicht mehr notwendig erwies³⁾.
- b) Pyridin. Das handelsübliche Produkt wurde über Kaliumhydroxyd aufbewahrt und unmittelbar vor Gebrauch durch zweimalige fraktionierte Destillation über KOH gereinigt. Die Leitfähigkeit der zwischen $113,0^{\circ}$ und $115,6^{\circ}$ übergehenden Fraktion betrug bei 20° C $8 \cdot 10^{-6} \text{ Ohm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$.
- c) Tetramethylammoniumchlorid wurde unmittelbar vor Gebrauch im Vakuum (Ölpumpe) getrocknet.

Überführungsmessungen

Es wurden hierfür ähnliche Anordnungen verwendet, wie sie bei den Versuchen in Phosphoroxychlorid beschrieben wurden. Als Elektroden dienten Platinzylinder mit 30 mm Höhe und 5 mm Durchmesser. Der Ladungstransport wurde mit einem Kupfer-Coulometer bestimmt. Das Überführungsgefäß befand sich in einem Glastrog, durch den Wasser aus einem Höppler-Thermostaten durchgepumpt wurde (Temperaturkonstanz $\pm 0,05^{\circ} \text{ C}$). Wegen der relativ geringen Leitfähigkeit der Lösungen mußten lange Versuchszeiten gewählt werden, dies umso mehr, als Stromstärken über 60 mA vermieden werden mußten, um lokale Erwärmungen im Elektrolyten auszuschalten.

Die Herstellung der Lösungen erfolgte unter Ausschluß von Feuchtigkeit. Nach dem Einbringen der Lösung in das vorher im Vakuum getrocknete Überführungsgefäß wurden die Verbindungen mit der Atmosphäre vor dem Zutritt von Feuchtigkeit durch mit Silikal-Gel gefüllte Röhrchen geschützt.

Nach Versuchsende wurden Katholyt, Anolyt und Mittelraumelektrolyt in gewogene Schliffkolben eingefüllt und das Lösungsmittel im Vakuum entfernt. Es blieb hierbei ein weißer, pulverförmiger Rückstand der Zusammensetzung $[(\text{CH}_3)_4\text{N}]\text{AsCl}_4$ zurück³⁾.

Analysen. Eine grobe Abschätzung der erfolgten Überführung ergab sich aus dem Gewicht des zurückbleibenden Tetramethylammonium-tetrachloroarsenites. Der Anolytrückstand war allerdings durch Spuren von

-16-

PtCl_4 gelbbraun gefärbt. Letzteres entstand durch Reaktion des anodisch gebildeten Chlors mit dem Elektrodenmaterial. Aus Stickstoff-Bestimmungen konnte die genaue analytische Zusammensetzung der Rückstände ermittelt werden.

Ergebnisse der Überführungsversuche. Bei allen elektrolytischen Versuchen erfolgte jeweils kathodisch die Abscheidung einer schwarzen, glänzenden Arsenschichte an der Kathode, während der Anolyt durch das in Lösung gehende Chlor gelb gefärbt wurde.

Die Ergebnisse der Überführungsmessungen sind in der folgenden Tabelle 2 enthalten. Daraus ergibt sich ein Mittelwert für die Überführungszahl des Anions von 0,97 bei 25° und einer Konzentration von $2,5 \cdot 10^{-2}$ Molen Tetramethylammoniumchlorid pro Liter Lösung.

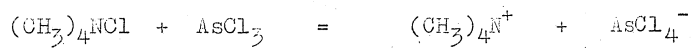
Tabelle 2, Ergebnisse der Überführungsversuche:

Versuch Nr.	1	2	3	4
c (Mol/l)	0,027	0,024	0,024	0,025
Dauer (h)	8	12	14	14
Temp. ($^\circ\text{C}$)	25	25	46	65,5
Spez. Leitf. der Anfangslösung bei 20° in $\text{Ohm}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1} \cdot 10^3$	1,08	1,14	1,12	1,37
Coulomb	524	498	900	917
n_K (aus dem Katholyten ermittelt)	0,0301 0,0321 <u>0,0284</u>	0,0360 0,0392 <u>0,0342</u>	0,0275 0,0320 <u>0,022</u>	0,0240 0,0169 <u>0,0222</u>
n_K (aus dem Anolythen ermittelt)	0,0293 <u>0,0280</u>	0,0319 <u>0,0301</u>	0,0191 <u>0,0210</u>	0,0130 <u>0,0111</u>

Die unterstrichenen Werte erscheinen uns als die zuverlässigsten, da sie aus Stickstoffbestimmungen der Rückstände unter Berücksichtigung der Gewichtsverschiebungen der Lösung in den Elektrodenräumen während der Elektrolyse gewonnen wurden.

-11-

Es zeigt sich also, daß das negative Solvens-Ion das AsCl_4^- -Ion in Lösung von Arsenrichlorid eine sehr hohe Überföhrungszahl (0.97) besitzt. Die Ergebnisse der Elektrolyse zeigen die Richtigkeit der schon früher aus konduktometrischen und präparativen Versuchen abgeleiteten Dissoziation des Tetramethylammoniumchlorids in Arsenrichlorid:



Kathodenvorgang: $3 \text{R}_4\text{N}^+ + 3 \text{e} + 4 \text{AsCl}_3 \rightarrow 3 \text{R}_4\text{NAsCl}_4 + \text{As}$

Anodenvorgang: $\text{AsCl}_4^- \rightarrow \text{AsCl}_3 + \frac{1}{2} \text{Cl}_2 + \text{e}$

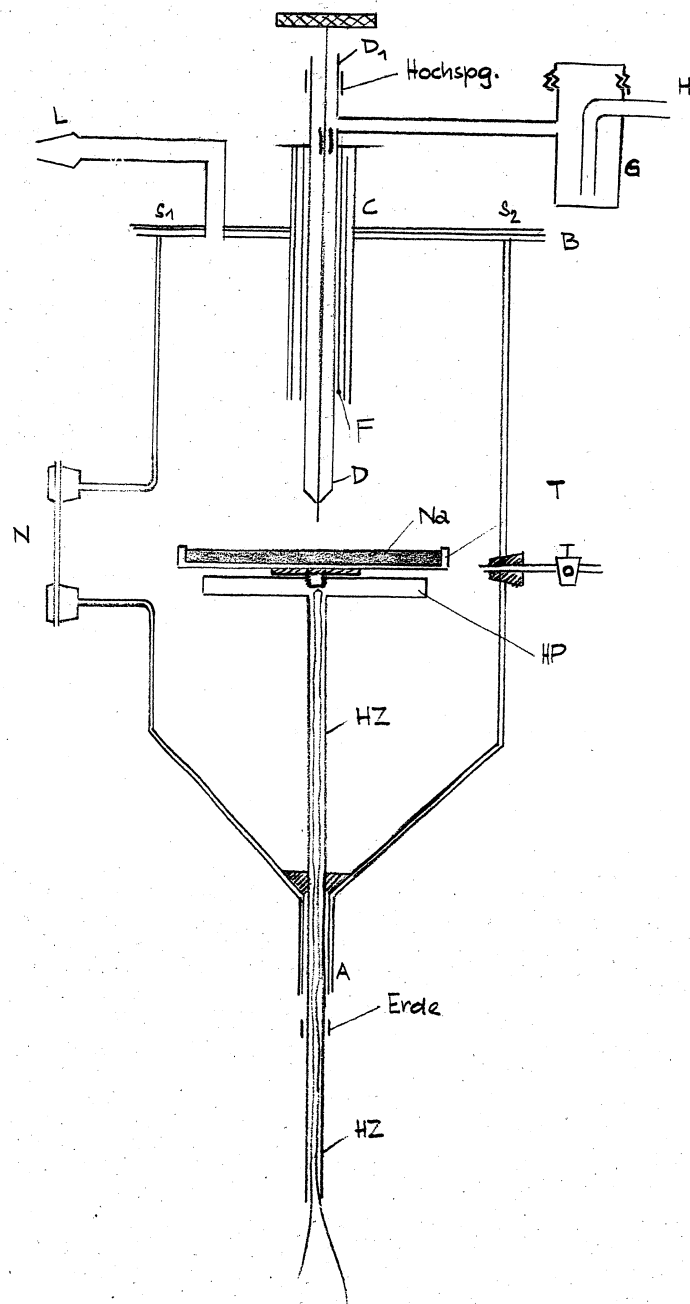
Ebenso, wie in wässrig alkalischen Lösungen tritt also bei der Elektrolyse basischer Lösungen in Arsenrichlorid nur eine Zersetzung des Solvens ein. Es erscheint naheliegend anzunehmen, daß die hohe Beweglichkeit nur eine scheinbare ist und durch einen besonderen Leitfähigkeitsmechanismus zu erklären sein wird. Es sollen Versuche über das Leitvermögen dieser Lösungen unternommen werden.

An den Arbeiten sind die Herren H. M o w o t n y und V. G u t m a n n beteiligt.

-12-

Literaturnachweis

- 1) Tätigkeitsberichte, Jänner, Feber und März 1954
- 2) D.B.Keves, S.Swann, Met.Ind.London 37, 87 (1930), ref.
in Gmelin-Kraut
- 3) V. Gutmann, Z.anorg.Chem. 266, 331 (1951)
- 4) O.C.Dermer, W.C.Fernelius, Z.anorg.Chem. 221, 83 (1934)
- 5) V. Gutmann, Mh.Chem. 85, 492 (1954)
- 6) L. Kahlenberg, J.phys.Chem. 4, 394 (1900) cit.R.Miller:
„Elektrochemie nicht-wässriger Lösungen“, Sammlung chem.
u. chem. techn.Vorträge Bd.XXVII, Stuttgart 1923, pp.98.
- 7) V. Gutmann, H. Nowotny, G.Ofner, Z.anorg.allg.Chem. 278, 79
(1955)
- 8) V.Gutmann, Mh.Chem. 86, 98 (1955)
- 9) L. Besson, L. Fournier C.R. 150, 872 (1910)
- 10) H.L.Andersson, I.Lindquist, Acta Chem.Scand. 8, 123 (1954)
- 11) K.Frycz, S. Tolloczko, ref. Chem. Zentralblatt 1913,I,91
- 12) I. Lundquist, H.L.Andersson, Acta Chem.Scand. 9, 79 (1955)



25X1

Page Denied

METALL

Zeitschrift für Technik, Industrie und Handel

SONDERDRUCK AUS HEFT 9/10, 9. JAHRG. 1955, S. 390-394

METALL-VERLAG GMBH, BERLIN-GRUNEWALD • HUBERTUSALLEE 18

Dozent Dr. F. BLAHA, Wien

Sechseckstrukturen in Einkristallen (I)

Zur Ablagerung von Verunreinigungen in aus der Schmelze wachsenden Metallkristallen

Die Herstellung von Einkristallen ist in den letzten Jahren stark in den Vordergrund des Interesses gerückt; insbesondere für Metalle und Halbleiter hat sich das Problem, reinste Kristalle herzustellen, von außerordentlicher Wichtigkeit erwiesen. In theoretisch-physikalischer Hinsicht lassen sich nämlich gerade am Einkristall die zahlreichen Materialeigenschaften, die man als strukturempfindlich bezeichnet, am besten studieren, und in technisch-praktischen Belangen ist in vielen Fällen der hohe Reinheitsgrad eine unbedingte Notwendigkeit, wie das heute wohl bekannteste Beispiel der Germanium-Einkristalle in ihrer Verwendung als Dioden beweist. In allen solchen Fällen ist man bemüht, von reinsten Grundsubstanzen auszugehen, wie sie beispielsweise nach Vielfachdestillation gewonnen werden, aber selbst das reinste Ausgangsmaterial enthält immer noch Spuren von Verunreinigungen. In diesem Zusammenhang erhebt sich nun die Frage, ob solche Verunreinigungen beim Wachstumsprozeß derart in das Kristallgitter eingebaut werden, wie man dies einer einfachen statistischen Verteilung nach erwarten dürfte, oder ob sie vielleicht in einer ganz bestimmten Weise, also etwa in bevorzugten Schichten, Gruppen oder dgl. abgelagert werden. Die vorliegende Arbeit will nun dieses Problem nicht in seiner Allgemeinheit behandeln, sondern hier soll vielmehr vorwiegend auf experimentelle Ergebnisse Bezug genommen werden, wie sie bei der Herstellung von Metalleinkristallen aus der Schmelze häufig vorliegen, und deren theoretische Deutung versucht werden, soweit dies derzeit möglich ist.

Verfahren zur Herstellung von Einkristallen

Bekanntlich teilt man die Herstellungsverfahren im allgemeinen in zwei Gruppen ein, und zwar je nachdem, ob die

Kristalle im Schmelzgefäß selbst entstehen oder ob die Schmelze außerhalb des Tiegels erstarren gelassen wird (1).

Die erste Gruppe wird mit allen ihren Varianten meist als Tammann- oder Bridgman-Verfahren bezeichnet (2, 3). Im Prinzip wird die in einem Gefäß befindliche Schmelze mit einem Kristallkeim geimpft, von dem aus dann unter entsprechend eingehaltenen Temperaturbedingungen die Kristallisation des gesamten Gefäßinhaltes erfolgt. Für die Regulierung des Temperaturverlaufes im Kristallisationsgefäß sind mannigfache Anordnungen konstruiert worden, von denen hier die von Chalmers (4) erwähnt sei, bei der über einen horizontalen, länglichen Graphitbehälter, der die Schmelze enthält und oben offen ist (ein „Boot“), ein Röhrenofen geschoben wird; je nach der Geschwindigkeit, mit der dann der Ofen weggezogen wird, erstarrt die Schmelze im Boot rascher oder langsamer, wobei sie allenfalls die kristallographische Orientierung eines am kühleren Ende des Bootes eingesetzten Impfkristalles annimmt. Diese Methode wurde schon bei vielen Metallen praktisch erprobt und ist mannigfachen Anpassungen zugänglich. Allerdings sind Einflüsse der Gefäßwandungen, sei es, daß sie Verspannungen in den Proben verursachen oder chemische Veränderungen mit sich bringen, unter Umständen störend.

Die Verfahren der zweiten Gruppe stellen alle mehr oder weniger Modifikationen der zuerst von Czochralski (5) angegebenen Methode dar: Ein Impfkristall wird mit der reinen Oberfläche der Schmelze in Berührung gebracht und dann langsam emporgezogen. Dabei erstarrt der anhaftende Schmelzfaden und nimmt die kristallographische Orientie-

runge des Impfkristalles an; hierfür ist allerdings Voraussetzung, daß die Ziegeschwindigkeit innerhalb eines für jedes Metall charakteristischen Bereiches bleibt. Die auf diese Weise erhaltenen Proben, die die Gestalt von Drähten oder Stäben haben, sind vor allem dadurch ausgezeichnet, daß sie sich während des Erstarrungsvorganges völlig frei und unbehindert von irgendwelchen Gefäßwänden entwickeln konnten. Überdies kann bei diesem Ziehverfahren nicht nur die Temperatur, sondern auch der Temperaturgradient im Wachstumsgebiet einfach reguliert werden, indem man nämlich in einiger Entfernung über der Schmelzoberfläche mittels einer Ringdüse ein Gas von bestimmter Temperatur gegen die wachsende Probe bläst. Einen gewissen Nachteil bringt jedoch dieses Ziehverfahren insofern, als — zumindest bei einfacheren Anordnungen — niedrig schmelzende Metalle zur Verwendung gelangen können und Proben mit einem Durchmesser von mehr als 10 mm nicht leicht gelingen. Das Schutzzug über der Schmelze soll auf das vorliegende Metall abgestimmt sein; da sonst unter Umständen unerwünschte Effekte auftreten und störend wirken können (Oxydation, Reibhinder-Effekt (6) u. a. m.).

Jede der beiden Verfahrensgruppen hat somit gewisse Vor- und Nachteile. Die Verschiedenheit der beiden Methoden kommt auch in der Beschaffenheit der Proben in mancher Hinsicht zum Ausdruck — z. B. treten beim Ziehverfahren Orientierungsänderungen entlang einer Probe häufiger auf —, doch geschieht gerade die Abklärung von Fremdelementen während des Wachstums der Proben in beiden Fällen in sehr ähnlicher Weise.

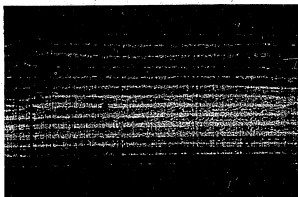


Abb. 1. Mantelfläche eines Zn-Kristalles mit Kannelierungen parallel zur Probenachse. $V = 40 : 1$



Abb. 2. Wie Abb. 1, Kannelierungen schräg verlaufend. $V = 50 : 1$

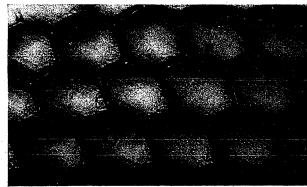


Abb. 3. Regelmäßig ausgeprägte Sechsecke der Abschlußfläche eines Zn-Kristalles. $V = 275 : 1$

Experimentelle Ergebnisse

Wendet man zur Herstellung der Einkristalle das übersichtlichere Ziehverfahren an, so fällt vor allem bei Proben größeren Durchmessers auf, daß ihre Mantelflächen durch eine eigenartige Kannelierung gekennzeichnet sind, die sich um den ganzen Umfang der Probe herum erstreckt. Die Kannelierung liegt parallel zur Probenachse oder schließt mit ihr Winkel von einigen Graden ein. Die Abb. 1 und 2 bringen solche Beispiele, sie stammen von Zn mit einem Reinheitsgrade von 99,996 % (Fremdmetall Pb, in geringsten Spuren Cd und Fe). Derartige Ergebnisse erhält man immer dann, wenn die Ziegeschwindigkeit (je nach Durchmesser der Probe) ungefähr zwischen 5 und 50 cm/h liegt. Der Verlauf der Kannelierung um den ganzen Draht herum erweckt den Eindruck, daß die Kristallprobe eine Unterstruktur besitzt, so als ob sie als Ganzes aus dünnen, säulen- oder faserartigen Gebilden aufgebaut wäre. Dieser Eindruck wird noch verstärkt, wenn man von derartigen Proben die Abschlußfläche näher untersucht, die dann entsteht, wenn die mit einer konstanten Geschwindigkeit aus der Schmelze gezogene Probe plötzlich in ihrem Wachstum unterbrochen wird, indem man sie ruckartig von der Oberfläche der

Schmelze abhebt. Die auf diese Weise entstandene Abschlußfläche der Kristallprobe ist im ganzen genommen annähernd eben, weist jedoch ein polygonales Muster auf, das das Innere der Polygone als Ganzes hervorgehoben ist, während die Begrenzung talartig vertieft liegt und manchmal ein Polygon selbst zusätzlich noch mehrere kleine Buckel erkennen läßt (vgl. Abb. 3 links unten). Beträgt der Polygondurchmesser z. B. 0,05 mm, so beläuft sich der Höhenunterschied zwischen Innerem und Begrenzung auf ungefähr 0,003 mm. Diese Differenz ist während des Wachstums wohl noch erheblich größer anzunehmen, denn in den vertieften Stellen wird beim Herausziehen infolge der Oberflächenspannung sicher etwas Schmelze zurückgehalten bzw. mitgenommen. Offenbar sind diese Polygone die Spuren der säulenartigen Gebilde, aus denen sich der Kristall aufbaut und die an den Seitenflächen als Kannelierung in Erscheinung treten. Dies geht unmittelbar aus den übereinstimmenden Abmessungen beider Erscheinungsformen hervor und ist überdies an den Randgebieten der Probe zu erkennen, wo sich jedem Polygon der Abschlußfläche eine Fortsetzung als Profilierung an der Mantelfläche zuordnen läßt (Abb. 4). Es sei an dieser Stelle ausdrücklich bemerkt, daß die beschriebenen Erscheinungen an den Proben unmittelbar, d. h. ohne jede Ätzung wahrgenommen werden können.

Zu analogen experimentellen Ergebnissen bei der Herstellung der Kristalle kommt man auch mittels geeigneter Bridgman-Methoden, wenn man z. B. die eingangs beschriebene Form oder eine ähnliche anwendet (8, 9). Hierzu wird beim „boot“ an dem Ende, wo das Metall noch flüssig ist, plötzlich die Wand entfernt, so daß die ganze Schmelze abfließen kann, oder das Boot als Ganzes wird

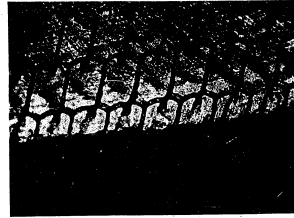


Abb. 4. Zn-Kristall. Übergangsstelle von der Seiten- zur Abschlußfläche (Oxydaustreten von links oben nach rechts unten verlaufend). $V = 130 : 1$

entsprechend geneigt. Durch eine solche Dekantierungsmethode wird von dem im Boot bereits erstarrt gewesenen Metall die Grenzfläche gegen die abgeflossene Schmelze freigelegt, und es zeigt sich, daß man hier völlig ähnliche Bilder erhält, wie sie oben im Ziehverfahren als Abschlußfläche beschrieben wurden. Ein Beispiel hierzu bringt Abb. 5, die von einer Sn-Probe stammt (8).

Nach den bisher beschriebenen Ergebnissen wäre man vielleicht geneigt, die Erscheinung als einen Effekt zu deuten, der bloß auf die Oberflächen der Proben beschränkt ist. Dem steht aber die Tatsache entgegen, daß das Schutzzug offenbar nur eine untergeordnete Rolle spielt, denn die Erscheinungen ändern sich ihrem Wesen nach nicht, wenn man das Wachstum in einer anderen Atmosphäre vor sich gehen läßt, d. h. das Schutzzug wechselt. Noch instruktiver, ja geradezu entscheidend ist jedoch der Umstand, daß diese Unterstruktur auch im Inneren der Proben nachgewiesen werden kann. Spaltet man nämlich z. B. einen Zinkkristall und ätzt die so erhaltene, blanke hexagonale Basisfläche, so entsteht ein Muster, aus dem klar hervorgeht, daß der säulenartige Aufbau tatsächlich den ganzen Kristall durchzieht. Abb. 6 zeigt eine solche Ätzfigur (10); sie stammt von einer Probe, die nach einem Bridgmanverfahren hergestellt worden war. Von derartigen Proben liefern auch die den Mantelflächen entsprechenden Stellen ein Ätzmuster, das den frei gewachsenen Kannelierungen des Ziehverfahrens in höchstem Grade ähnlich ist. Somit unterscheiden sich also die nach den beiden Verfahren hergestellten Proben gerade hinsichtlich der Existenz der Substruktur im Kristall nicht wesentlich. Diese Ergebnisse beweisen damit wohl hinreichend, daß es sich bei der beschriebenen Substruktur nicht um einen Oberflächen-, sondern um einen Volumeneffekt handelt.

Während bisher in erster Linie die prinzipiellen Erscheinungsformen der Substruktur beschrieben wurden, soll nunmehr auf ihre Änderungen bei Variation der Versuchsbedingungen etwas näher eingegangen werden.

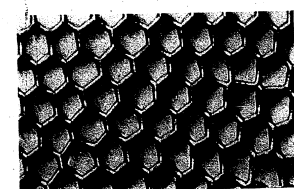


Abb. 5. Sechseckstruktur einer dekantierten Sn-Probe [8].

Zunächst seien die Folgen einer Änderung der Wachstums- geschwindigkeit behandelt. Hinsichtlich einer Steigerung der Geschwindigkeit sind die Möglichkeiten insofern beschränkt, als jedes Metall bekanntlich eine charakteristische obere Grenze für die Einkristallbildung besitzt (1). Jedenfalls läßt sich bei Zink mit zunehmender Geschwindigkeit eine deutliche Verkleinerung der Polygone im Mittel feststellen, wobei gleichzeitig die typischen Erscheinungen des dendritischen Wachstums immer deutlicher in den Vordergrund treten, bis schließlich bei ungefähr 150 cm/h Ziegeschwindigkeit für Zink kaum noch Einkristalle erhalten werden können. Bei Sn, Pb und anderen Metallen liegen die Dinge ganz ähnlich. (Kurvengemäße Darstellungen dieses Sachverhalts zu bringen, erscheint nicht sehr zweckmäßig, da die Maßpunkte stets stark streuen.) Es sei betont, daß diese Ergebnisse nur bei sonst gleichen oder zumindest sehr ähnlichen Versuchsbedingungen (d. h. gleichen Temperaturgradienten, Reinheitsgrad der Schmelze usw.) gelten. Die „Säulenstruktur“ weist ihre größte Gleichförmigkeit in Form von regelmäßigen Sechsecken als Querschnitt bei Wachstums- geschwindigkeiten von etwa 30 cm/h im Falle des Zn auf, wobei es sich als günstig erweist, wenn man die Probe über eine längere Strecke (mehrere cm) unter völlig konstanten Bedingungen wachsen läßt, bevor man ihr Wachstum beendet. Andererseits sind Mißbildungen sehr häufig, die den Eindruck erwecken, als ob zwei oder mehrere Sechsecke infolge Verwachsung mit ihren Nachbarn zu einem Polygon mit fünf, sieben oder noch mehr Ecken entartet wären (Abb. 7). — Geht man zu immer kleineren Wachstums- geschwindigkeiten über, so tritt im Falle des Zn bei etwa 5 cm/h, für Sn bei 3 cm/h, abgesehen von einer Vergrößerung der Fasern eine auffällige Änderung im Aussehen des gesamten Polygonmusters auf. Es scheinen sich nämlich die Fasern zu Gruppen zusammenzuschließen, indem in einer Richtung ihre Begrenzungen verschwinden, so daß der Kristall nun nicht mehr aus Fasern oder Stäben, sondern aus Schichten oder Bändern aufgebaut erscheint. Das macht sich sowohl an den Mantel- als auch an den Abschlußflächen unmittelbar bemerkbar. Abb. 8 zeigt die angeätzte Spaltfläche eines solchen Zn-Kristalles und beweist, wie nunmehr eine Substruktur mit schichtartigem Aufbau das Innere des Kristalles durchzieht. Hier scheinen die Schichten gegeneinander ziemlich glatt verlaufende Begrenzungen zu besitzen; es gibt jedoch auch Beispiele, aus denen man deutlich erkennen kann, wie sie tatsächlich als Entartung durch Verschmelzen von sechseckig begrenzten Fasern hervorgegangen sind, wo also dann in einem zu Abb. 8 analogen Fall die Begrenzungen einen zickzackförmigen Verlauf aufweisen. Geht man mit der Wachstums- geschwindigkeit noch weiter herunter, so nehmen diese Schichten an Zahl immer mehr ab, und schließlich ver-
winden auch die Schichten.



Abb. 6. Ätzmuster der Spaltfläche eines Zn-Kristalles [aus (10)].

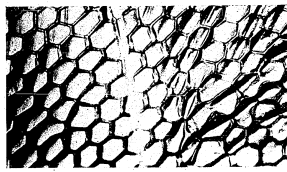


Abb. 7. Zum Teil unregelmäßig ausgebildete Sechseckstruktur einer Zn-Probe, Oxydatverfärbungen an der Oberfläche. $V = 60:1$

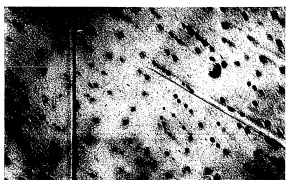


Abb. 8. Spaltfläche eines langsam gewachsenen Zn-Kristalles (Schichtbildung) angeätzt mit 50%iger HNO_3 + Alkohollösung. Die unter 60° zueinander liegenden Geraden sind beim Spalten entstandene Zwillingslamellen. $V = 60:1$

tritt auch infolge Änderung des Temperaturgradienten im Wachstumsgebiet auf: Ein steller Gradient verursacht Zellverkleinerung. Dabei beschreiben Rutter und Chalmers (9), daß nach ihrer Methode bei Zinnproben ein sehr steller Temperaturgradient ($> 75^\circ C/cm$, Wachstumsgeschwindigkeit $17 cm/h$) eine Unterdrückung der Zellstruktur zur Folge hatte. Bei ihrer Herstellungsmethode ist apparativ eine Vergrößerung der Wachstumsgeschwindigkeit stets mit einer Abnahme des Temperaturgradienten verknüpft. Hierzu muß bemerkt werden, daß es schwer fällt, einigermaßen verlässliche numerische Werte für den Gradienten im Wachstumsgebiet selbst anzugeben, insbesondere beim Ziehverfahren ist man nur auf Abschätzungen angewiesen, denen man den Temperaturverlauf in der weiteren Umgebung der Wachstumsfront, den man leichter messen kann, zugrunde legen muß. Bei flachem Gradienten vergrößern sich die Zellen merklich, bei dem nach der Ziehmethode hergestellten Zinkproben erreichen sie ein Vielfaches der Größe wie bei steilen Gradienten. Dabei kann es überdies zur Ausbildung von bemerkenswert glatten Flächen an der Abschlusfläche kommen: Gibt man der wachsenden Probe während des Emporziehens durch entsprechenden Temperaturverlauf im Wachstumsgebiet die Möglichkeit, gleichzeitig in die Schmelze hineinzuweichen (also eine Art Kombination mit dem Kyropoulos-Verfahren (11)), so bildet sich im ganzen genommen eine konvexe Wachstumsfront aus. Nach dem Abheben von der Schmelze zeigen sich dann aber an der Abschlusfläche eine Reihe von hochgradig glatten sowie teilweise vergroßerten, ebenen Flächen, so als ob an die kaltenförmigen Abschlusflächen Facetten angeschliffen wären. Die einzelnen Flächen sind durch tiefer zurückliegende Grenzen getrennt und haben zum Teil niedrige Indizierung, zum Teil sind sie als Vignettes anzusprechen. Bemerkenswert erscheint, daß selbst bei so verhältnismäßig großen Kristallisationsgeschwindigkeiten derart ebene Flächen mit Ausdehnungen bis in die Größen-

ordnung von Quadratmillimetern entstehen können (Abb. 9). — Während somit der Temperaturgradient die Zellengröße entscheidend beeinflusst, scheint er auf die Ausbildungsrichtung der Fasern ohne Einfluß zu bleiben.

Es erhebt sich nun auch die Frage, ob sich ein einfacher Zusammenhang zwischen Lage der Fasern und Kristallgitter sowie Probenachse finden läßt. Es sei vorausgeschickt, daß die Begrenzungen der Fasern bzw. Schichten i. a. nicht irgendwelchen kristallographisch bevorzugten Richtungen folgen (hier sei nochmals auf die Abb. 8 verwiesen, aus der ersichtlich ist, wie die Schichten gegenüber der kristallographisch orientierten und sich unter 60° schneidenden Zwillingslamellen [$K_1 = (1012)$, $K_2 = (10\bar{1}2)$], die beim Spaltvorgang entstanden (12), völlig willkürlich liegen, ja sogar an manchen Stellen deutlich gekrümmt erscheinen). Das ist bei allen Metallen der Fall und läßt sich unter anderem auch mit Laue-Rückstrahlungen nachweisen. Aus solchen Aufnahmen geht außerdem noch hervor, daß die einzelnen Fasern gegenseitig Orientierungsunterschiede — je nach Dicke der Proben — von wenigen Minuten bis zu Graden aufweisen können, ohne daß diese Schwankungen aber irgendwie systematisch sind.

Serienmäßige Untersuchungen über den Zusammenhang zwischen Richtung der Fasern und Probenachse als Funktion der Wachstumsgeschwindigkeit liegen von Sn für einige Ausgangsorientierungen vor (9). Bezeichnet man mit φ den Winkel zwischen der $[110]$ -Richtung und der Probenachse, so ergibt sich der in Abb. 10 dargestellte kurvenmäßige Zusammenhang, wobei als Ordinate der Winkel zwischen Faser- und Probenachse (φ), als Abszisse die Wachstumsgeschwindigkeit aufgetragen ist. In allen Fällen nähert sich bei kleinen Wachstums- und Ausbildegeschwindigkeiten die Ausbildegeschwindigkeit der Fasern der des Wärmeflusses, also unabhängig von φ , während sich für vorgegebenes φ die Fasern mit zunehmenden Wachstumsgeschwindigkeiten immer mehr der Richtung $[110]$ annähern. Allerdings kommt diesen Kurven wohl nur qualitative Bedeutung zu, denn nur so weit stehen sie in Übereinstimmung mit den Ergebnissen ähnlicher Untersuchungen (13).

Die Ausbildegeschwindigkeit der Substruktur ist offenbar sehr empfindlich, denn abgesehen davon, daß bei augenscheinlich gleichen Versuchsbedingungen nur selten völlig quantitative Übereinstimmung der Ergebnisse erzielt wird, tritt unter Umständen sogar eine qualitative Abweichung auf: So wurde im Falle von Zn-Proben, die nach dem Bridgman-Verfahren hergestellt worden waren, von Buerger (10) die Lage der Fasern zur Pro-



Abb. 9. Abschlusfläche eines Zn-Kristalles (in Stickstoffatmosphäre gezogen) mit hochgradig glatten Ebenen. $V = 5:1$

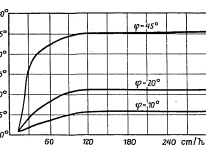


Abb. 10. Abszisse: Wachstumsgeschwindigkeit, Ordinate: Winkel zwischen Fasern und Richtung des Wärmeflusses (Probenachse), φ : Winkel zwischen $[110]$ -Richtung u. Probenachse. [Nach (9)]

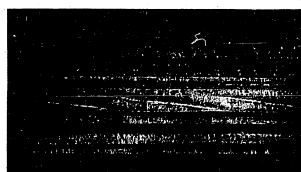


Abb. 11. Parallel liegende Fasern, mit dazwischenliegender anisotroper Schicht, die sich periodisch entlang der Probe wiederholt. $V = 60:1$

benachso orientiert gefunden, daß sich die Fasern zwischen kristallographischer c-Achse und Probenachse befinden, während für Proben nach dem Ziehverfahren die Fasern in der Regel so orientiert zu sein scheinen, daß sie zwischen hexagonaler Basis und Richtung der Probenachse (Richtung des Wärmeflusses), letzterer aber stets viel näher zu liegen kommen; dabei befinden sich Faserrichtung, kristallographische c-Achse und Probenachse in einer Ebene. Für die Labilität hinsichtlich der Entwicklung der Substruktur spricht wohl auch der Umstand, daß gelegentlich auch in einer Einkristallprobe eine schräg liegende Kannelierung auftritt, die sich entlang der ganzen Probe regelmäßig wiederholend ausbildet, wofür Abb. 11 ein Beispiel bringt. Allerdings zählen solche Fälle zu den Ausnahmen. Solange man es mit Metallen zu tun hat, die keine einzelne, besonders stark bevorzugte Wachstumsebene aufweisen, erscheinen die Zellen gleichzeitig begrenzt, beim hexagonalen Zink hingegen entsprechen die Fasern selbst im allgemeinen nicht mehr gleichseitigen Sechsecken im Querschnitt, sondern die Zellen sind hier meist in einer Richtung, die der Spur der hexagonalen Basis entspricht, ein wenig verzerrt (vorausgesetzt, daß die hexagonale Basis mit der Abschlusfläche einen Winkel $\geq 10^\circ$ einschließt). Eine solche Verzerrung oder Deformation läßt sich z. B. aus Abb. 3 erkennen, wo die Spuren der hexagonalen Basis als feine parallele Linien sichtbar sind. Wieso diese Linien auftreten, läßt sich nicht mit Bestimmtheit sagen; jedenfalls stammen sie nicht von einer Ätzung oder von einer von außen her erfolgten mechanischen Beanspruchung, sie könnten aber infolge der raschen Abkühlung beim Abheben des Kristalles von der Schmelzoberfläche entstanden bzw. als Spuren einer Lamellenstruktur aufzufassen sein (14). Diese feinen Linien bilden übrigens auch ein anschauliches Mittel, um die üblicherweise mittels polarisiertem Licht erkennbare Grenze zwischen zwei verschiedenen orientierten Körnern leicht festzustellen. Abb. 12 (Dunkelfeldbeleuchtung) gibt hierzu ein Beispiel, das vor allem aber auch erkennen läßt, daß eine Korngrenze keineswegs immer mit einer Zellengrenze zusammenfallen muß, wenn auch eine deutliche Tendenz in dieser Hinsicht zweifellos vorhanden ist.

Ein Zusatz von 0.2% Cd zu Zn hat zur Folge, daß das Innere der Zellen weiter in die Schmelze hervorzustehen scheint, als dies ohne diesen Zusatz der Fall ist, und überdies werden dadurch sowohl Größe als auch Begrenzung der Zellformen auffallend unregelmäßig. Stärkere Zusätze zur Schmelze steigern diese Unregelmäßigkeiten immer mehr. Hierzu liegen übrigens in letzter Zeit Untersuchungen von reinem Zinn vor, dem verschiedene Metalle zulegt wurden (15).

Bezüglich der Frage des Verunreinigungszusatzes brachten Versuche mit radioaktiven Substanzen sehr weitgehende Aufschlüsse (9). Sb^{125} , ein β -Strahler mit einer Halbwertszeit von 60 Tagen, bewirkt als ungefähr 0.1% iger Zu-

satz zu reinem Pb (99,999%) eine visuell ganz analoge Zellstruktur wie in den oben beschriebenen Fällen, vorausgesetzt, daß bei der Probenherstellung die Oxydation des Pb verhindert wird. Die frei gebildeten Oberflächen der Proben, die dann in Kontakt mit Kern-Photoplatten gebracht werden, geben ein Schwärzungsmuster, das mit dem in den früheren Abbildungen gezeigten übereinstimmt. Wurde ein solches Präparat nachträglich einen Tag lang bei $300^\circ C$ in Stickstoff-Atmosphäre getempert, so zeigten sich im Autoradiograph keine entsprechenden Muster mehr. — Außerdem ergab das Experiment, daß der durchschnittliche Sb-Gehalt entlang der Probe zunimmt, d. h. daß das Probende (also der Teil, der zum Schluß erstarrt) einen größeren Sb-Gehalt aufweist, als der anfänglich erstarrte Festkörper.

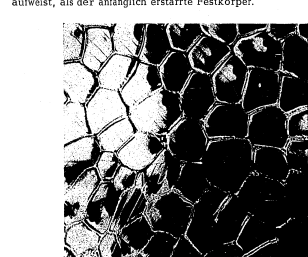


Abb. 12. Korngrenze (dunkle untere Drittel) fällt nicht immer mit Zellengrenzen zusammen. $V = 150:1$

Vorstehend wurden als Beispiele nur einige Substanzen erwähnt, weil die angeführten Metalle schon ausführlicher untersucht wurden. Eine Beschränkung der Erscheinung etwa auf bestimmte Kristallsysteme besteht aber keineswegs. Bisher liegen Beobachtungen vor bei Ag, Al, Bi, Cd, Cu, In, Ni, Pb, Sb, Sn, Zn, einigen Legierungen sowie vielen Mineralien (16, 17).

(Schluß folgt)

Die vorliegenden Untersuchungen wurden am II. Physikalischen Institut der Universität Wien ausgeführt. Ich möchte auch an dieser Stelle Herrn Prof. Dr. E. Schmid für seine wertvolle Unterstützung danken.

Schrifttum

- (1) E. Schmid u. W. Boas, Kristallplastizität, Verlag J. Springer, Berlin, 1935.
- (2) G. Tammann, Lehrb. d. Metallurg., Leipzig, 1922.
- (3) P. W. Bridgman, Proc. Amer. Acad. 40 (1924), S. 303.
- (4) B. Chalmers, Proc. Roy. Soc. London 175 A (1940), S. 100.
- (5) J. Czochralski, Z. phys. Chem. 92 (1917), S. 210.
- (6) F. A. Rehbinder u. E. K. Wenström, Isvest. Akad. Nauk. USSR, 1937, S. 531.
- (7) F. B. Laue, Nature 171 (1953), S. 650.
- (8) K. B. Pond u. S. W. Kessler, J. Metals 3 (1951), S. 1156.
- (9) J. W. Rutter u. B. Chalmers, Canad. J. Phys. 31 (1953), S. 15.
- (10) M. J. Buerger, Z. Kristallogr. 89 (1934), S. 195.
- (11) S. Kyropoulos, Z. anorg. allg. Chem. 154 (1920), S. 306.
- (12) A. D. Rytov u. G. B. Greenough, Phil. Mag. 45 (1951), S. 524.
- (13) E. Teghtsoyanian u. B. Chalmers, Canad. J. Phys. 29 (1951), S. 370.
- (14) L. Graf, Z. Metallkde. 42 (1951), S. 336, 401.
- (15) A. J. Goss, Proc. Phys. Soc. 66 B (1953), S. 65.
- (16) A. J. Goss u. S. Weintraub, Proc. Phys. Soc. 65 B (1952), S. 561.
- (17) P. R. Rowland, Proc. Phys. Soc. 65 B (1952), S. 566.

METALL

Zeitschrift für Technik, Industrie und Handel

SONDERDRUCK AUS HEFT 9/10, 9. JAHRG. 1955, S. 349-352

METALL-VERLAG GMBH, BERLIN-GRUNEWALD · HUBERTUSALLEE 18

Dr. B. NEUMANN und Prof. Dr. E. SCHMID, Wien

Effekte von Korpuskularbestrahlung an aushärtbaren Legierungen

Mitteilung aus dem II. Physikalischen Institut der Universität Wien

Kennzeichnung der Einwirkung verschiedener Strahlenarten auf Metalle — Bericht über die amerikanischen Untersuchungen über Neutronenbestrahlung von Cu-Be-Legierungen — Eigene Bestrahlungsversuche mit α - und β -Strahlen zeigen keinen Einfluß auf die Härte, wohl aber auf den spez. Widerstand von Cu-Be-Legierungen — Bei aushärtbaren Leichtmetall-Legierungen ließ α -Bestrahlung bisher keinen Volumeneffekt beobachten.

Untersuchungen über die Wirkung verschiedener Strahlenarten (Neutronen, Protonen, Deuteronen, α -Strahlen und Elektronen) auf die Materie werden seit etwa 10 Jahren in steigendem Umfang durchgeführt. Die Hauptanregung hierzu ging von Materialfragen aus, die sich beim Bau großer Reaktoren ergaben. Bei Halbleitern und Kunststoffen führte Strahlenbeeinflussung weiterhin zu technisch wertvollen Ergebnissen. Von grundsätzlichem Interesse ist die Möglichkeit, hierdurch in dosierter Weise Fehlstellen in Kristallen zu erzeugen und ihre Wirkung zu verfolgen.

In dieser Arbeit soll nur ein kleiner Ausschnitt aus diesem Gebiet, die Wirkung von Korpuskularbestrahlung auf aushärtbare Legierungen, vornehmlich Cu-Be-Legierungen, behandelt werden (1). Zunächst wird kurz über die Ergebnisse amerikanischer Arbeiten berichtet, in denen durchweg Bestrahlungen mit Neutronen verwendet wurden. Anschließend werden eigene Bestrahlungsversuche mit α - und β -Strahlen beschrieben.

Die theoretische Behandlung der Strahleneinwirkung geht von energetischen Betrachtungen elastischer Stoßvorgänge aus. Die Energie E , die ein Teilchen mit der Masse M_1 und der Energie E_1 auf einen ruhenden Gitterbaustein der Masse M_2 übertragen kann, ist durch

$$E = E_1 \frac{4 M_1 M_2}{(M_1 + M_2)^2} \cdot \cos^2 \psi$$

gegeben, worin ψ der Winkel zwischen den Richtungen des stoßenden Teilchens vor dem Stoß und des gestoßenen nach dem Stoß ist. Die von Reaktor-Neutronen (2 MeV), α -Strahlen von Po (5,3 MeV) und β -Strahlen von ^{32}P (1,7 MeV) maximal auf Kupfer- und Beryllium-Atome übertragbaren Energien sind in Zahlentafel I angegeben. Da die Bewegungsenergie eines Gitteratoms benötigte Verlagerungsenergie etwa 25 eV beträgt, erkennt man, daß die Energie der in der Zahlentafel aufgenommenen Projektile, abgesehen von der der Elektronen, bei weitem ausreicht, um Gitteratome aus ihren Gleichgewichtslagen herauszuschleudern.

Zahlentafel I. Maximal auf Be- und Cu-Atome übertragbare Energie

Teilchen	stoßend	gestoßen	E_1 MeV	E MeV
Neutron		Be	2	0,72
Neutron		Cu		0,13
α -Teilchen		Be	5,3	4,5
α -Teilchen		Cu		1,17
β -Teilchen		Be	1,7	0,00039
β -Teilchen		Cu		0,00008

Für genauere Betrachtungen, wie sie von Seitz (2) in seiner Theorie durchgeführt werden, sind die Besonderheiten der verschiedenen Strahlenarten zu berücksichtigen. Neutronen (ungeadene Teilchen) verlieren ihre Energie hauptsächlich durch Kernstöße, die entweder zum Heraus-schleudern von Gitterbausteinen oder zur Erzeugung von Gitterwellen führen. Bei genügender Energie sind die herausgeschlagenen Gitterbausteine auch ihrerseits fähig sekundär, tertiär usw. weitere Atome aus den Gleichgewichtslagen zu entfernen. Die Bestrahlung führt zur Einlagerung von Paaren von Leerstellen und besetzten Zwischengitterplätzen, sog. Frenkel-Defekten im Kristall. Die Energie der Gitterwellen wird durch Dämpfung in Wärmeenergie übergeführt. Bei langsamen Neutronen ist noch zusätzlich mit Kernreaktionen zu rechnen. Geladene Teilchen (Protonen, Deuteronen, α -Teilchen und Rückstoßkerne) verlieren den weitaus größten Teil ihrer Energie durch Anregung und Ionisation, können also nur einen geringen Teil ihrer Primärenergie für Stöße verwenden. Elektronen sind wegen ihrer geringen Masse im allgemeinen nur in der Lage, ionisierend und anregend zu wirken; Kernstöße, die zu einem Heraus-schleudern eines Gitterbausteins führen, können nur bei leichten Kernen erwartet werden.

Schon Seitz weist darauf hin, daß es in Bereichen entlang der Bahnen der stoßenden Teilchen kurzzeitig zum Auftreten sehr hoher Temperaturen kommen muß — Störungsgebiete, die durch Frenkel-Defekte und strukturell und thermisch bedingte Spannungen gekennzeichnet sind.

zeichnet sind —, Brinkmann (3) kommt zu dem Schluss, daß diese Temperaturerhöhungen bei schweren Metallen schließlich zu einem lokalen Schmelzen führen müssen. Sofortige Kristallisation unter Keimwirkung durch den umgebenden Mutterkristall führt zur Besetzung zunächst gebildeter Frenkel-Defekte. Vereinzelt Versetzungen und verschieden orientierte Mikrokriställchen werden aber in diesen Verlagerungsbereichen, die zwar die gleiche Orientierung wie der umgebende Kristall besitzen, in denen aber die Gitterbausteine nicht exakt an den ursprünglichen Plätzen sitzen, zurückbleiben. In bestrahlten Metallen wird man so vor allem mit dem Vorhandensein von Frenkel-Defekten und mit Folgeerscheinungen stoßartiger lokaler Erhitzung zu rechnen haben. Die Seitzsche Theorie führt zu Abschätzungen der Zahl der Frenkel-Defekte, die mit den experimentellen Feststellungen in Einklang sind.

I. Wirkung von Neutronenbestrahlung

In den amerikanischen Untersuchungen wurden die im Reaktor bei der Spaltung des Uransotops ^{235}U entstehenden Neutronen, die eine mittlere Energie von 2 MeV besitzen, verwendet. Billington und Siegel (4) unterwarfen eine Legierung mit 2,15 % Be nach verschiedener thermischer und mechanischer Vorbehandlung Neutronenbestrahlungen verschiedener Gesamtintensität.

Zahlentafel 2. Härteanstieg einer Cu-Be-Legierung durch Neutronenbestrahlung (nach Billington und Siegel)

Vorbehandlung	Härte R_0 vor Bestrahlung	Änderung
1,8 · 10 ¹⁸ Neutronen/cm ²		
Abgeschreckt vor 770° C	14	+ 30
+ 50 % Kaltreckung	87	0
+ 1 Std. 280° C	102	100
+ 1 Std. 290° C	65	+ 3
+ 6 Std. 280° C	55	69
+ 10 Std. 280° C	55	71 + 16
2 · 10 ¹⁸ Neutronen/cm ²		
Abgeschreckt vor 770° C	18	+ 62
+ 50 % Kaltreckung	83	+ 12
+ 15 Std. 280° C	94	+ 4
+ 1 Std. 280° C	101	+ 1
+ 2 Std. 280° C	100	+ 3
+ 3 Std. 280° C	103	+ 1
+ 1 Std. 290° C	89	+ 6
+ 18 Std. 400° C	67	+ 18

Zahlentafel 3. Widerstandsänderung einer Cu-Be-Legierung durch Neutronenbestrahlung (nach Billington und Siegel)

Vorbehandlung	Widerstandsänderung in % nach thermischer Behandlung	anschließend 50% Kaltreckung
1,8 · 10 ¹⁸ Neutronen/cm ²		
Abgeschreckt vor 770° C	+ 12,3	+ 1,7
2,3 · 10 ¹⁸ Neutronen/cm ²		
Abgeschreckt vor 770° C	+ 15,0	+ 1,8
+ 4 Min. 280° C	+ 10,1	+ 3,5
+ 15 Min. 280° C	+ 7,1	+ 2,3
+ 30 Min. 280° C	+ 2,9	+ 1,9
+ 60 Min. 280° C	+ 0,6	
4,0 · 10 ¹⁸ Neutronen/cm ²		
Abgeschreckt vor 770° C	+ 15,5	
+ 100 Min. 280° C	+ 5,5	
+ 100 Min. 300° C	+ 5,8	
+ 240 Min. 400° C	+ 9,4	
+ 1080 Min. 400° C	+ 14,5	

Die Zahlenzeilen 2 und 3 zeigen die durch die Bestrahlung herbeigeführten Änderungen der Härte und des Widerstands.

Die größten Effekte treten bei homogenisierten Legierungen auf, der thermische Aushärtung erreichbare Härtehöchstwert (103 R_0) wird jedoch auch bei hoher Strahlendosis nicht erreicht. Kaltverformung im Anschluß an die Abschreckung verringert die zusätzliche Strahlenwirkung,

optimale thermische Aushärtung bringt sie fast zum Verschwinden. Mit steigender Überalterung steigt auch die Strahlungshärtung wieder an. Bei dem Widerstand scheint steigende Strahlendosis zu einer Sättigung des Strahlungseffekts zu führen.

Murray und Taylor (5) bestätigten diese Befunde und erweiterten sie erheblich. Anlaßglühungen homogenisierter Proben werden bis zu Temperaturen von 75° C herunter durchgeführt, unter Erstreckung der Glühdauer bis 10 000 Stunden. Abschreckte Legierungen erfahren durch eine Gesamtbestrahlung von 2,3 · 10¹⁸ schnellen Neutronen/cm² einen Härteanstieg von 98 auf 145 Vickers und einen Widerstandsanstieg von 11,1 %. Die Bestimmung der funktionellen Abhängigkeit des Widerstandsanstiegs homogenisierter Proben von der Bestrahlungsdosis läßt deutlich den schon auf Grund der Werte von Billington und Siegel erwarteten Sättigungscharakter der Kurve erkennen. Aus dem ähnlichen Verlauf dieser Kurve mit der des Widerstandsanstiegs unbestrahlter, bei 75° C bis zu 10⁴ Stunden ausgehärteter Proben (vgl. auch Gröhl und Wassermann (6)) wird Gleichartigkeit der Vorgänge durch Neutronenbestrahlung und Anlaßbehandlung bei niedrigen Temperaturen vermutet. Zu demselben Schluß führen auch Versuche, in denen der Bedeutung einer nach der Abschreckung vorgenommenen Bestrahlung bzw. einer Anlaßbehandlung bei 125° C für die anschließende thermische Aushärtung und damit auch dem Problem der Rückbildung der Strahlenwirkung nachgegangen wird; für Widerstand und Härte ergeben sich dabei zwei deutlich verschiedene Rückbildungsgebiete, unabhängig davon, ob die ursprüngliche Erhöhung durch Bestrahlung oder Anlaßbehandlung bei 125° C bewirkt worden waren. Als Wirkung der Bestrahlung verhalten Murray und Taylor daher auch eine Keimbildung von γ -Ausscheidung, wobei jedoch für die Härtesteigerung andere Keime als für die Widerstandssteigerung verantwortlich sein müssen. Eine gewisse Schwierigkeit für diese Auffassung bilden allerdings die Ergebnisse von Präzisionsbestimmungen von Gitterkonstanten und Dichtemessungen. Der Sinn der Dichte- und Gitterkonstantenänderung liegt entgegengesetzt dem auf Grund von Ausscheidung zu erwartenden; die bei tiefen Temperaturen ausgehärtete Probe ändert ihre Gitterkonstante im Gegensatz zur bestrahlten Probe nicht.

Auf die Möglichkeit einer Deutung dieses Widerspruchs soll nicht mehr eingegangen, sondern nur noch auf Versuche von Cleland, Billington und Crawford (7) hingewiesen werden, die in der Tat zu zeigen scheinen, daß der Hauptteil der Widerstandssteigerung durch Bestrahlung auf Mikrodifffusion beruht. Bei —135° C bestrahlte, abgeschreckte Legierungen zeigen bei gleicher Bestrahlungsdosis nur den vierten Teil des Widerstandsanstiegs von bei 27° C bestrahlten Proben. Eine an eine Tieftemperaturbestrahlung anschließende Bestrahlung bei 27° C führt zu etwa derselben Widerstandssteigerung wie Gesamtbestrahlung bei der höheren Temperatur. Dies wäre im Sinne von Murray und Taylor so zu deuten, daß bei der tiefen Temperatur, bei der die Diffusion zurücktritt, in der Hauptsache nur die gebildeten Frenkel-Defekte widerstandssteigernd wirken, bei der höheren Temperatur Keimbildung hinzukommt. Diese erfolgt durch Diffusion der durch die Bestrahlung gebildeten Leerstellen, die zu einer bevorzugten Bildung von Keimen derjenigen Phase führt, die bei der betreffenden Temperatur stabil sind.

Neutronenbestrahlung von anderen übersättigten Mischkristall-Legierungen (Ni-Be, Cu-Ti, Cu-Ag, Al-Si) hat nur verschwindend kleine Härte- und Widerstandsänderungen ergeben (8).

II. Bestrahlungsversuche mit α - und β -Strahlen

Zur Prüfung der Frage, ob auch andere Korpuskularstrahlen als Neutronen Veränderungen in aushärtbaren Legierungen bewirken, verwendeten wir α -Strahlen von Polonium und

β -Strahlen des künstlich radioaktiven Phosphorisotops ^{32}P . Als Probematerial zogen wir auf Grund der amerikanischen Erfahrungen wieder vor allem eine Cu-Be-Legierung heran. Für Härteuntersuchungen lag die Legierung mit 1,8 % Be in Form von 1 mm dicken Bändern, für Widerstandsmessungen in Form von Draht von 0,04 mm Durchmesser vor.

Das Polonium war auf drei runde Scheibchen aus Palladium (3 mm Durchmesser) aufgedampft, die von einem Messingträger gehalten wurden. Die Stärke des Präparats, das α -Teilchen einer Energie von 5,3 MeV emittiert, betrug etwa 40 mC. α -Strahlen dieser Härte dringen in Kupfer etwa 10 μ tief ein.

Der radioaktive Phosphor war in einem Schiffchen aus Pyrexglas (Länge ~15 mm, Höhe ~4 mm, Breite ~5 mm) als Natriumphosphat niedergeschlagen. Die bei seinem Zerfall emittierten β -Strahlen haben eine maximale Energie von 1,7 MeV, die maximale Reichweite in Kupfer beträgt demnach etwa 0,9 mm. Die Ausgangsstärke des Präparats, das mit einer Halbwertszeit von 14 Tagen in Schwefel übergeht, betrug 75 mC.

Zur Bestrahlung der Proben wurden die Präparate möglichst nahe an die zu bestrahlende Stelle herangebracht. Zur Verhinderung einer Oberflächenoxydation erwies es sich als unbedingt erforderlich, die Proben durch eine Zwischenschicht zu schützen. Bei den Härteproben verwendeten wir hierzu eine unmittelbar auf die Probe aufgelegte Zaponlackfolie. Ohne solche Abdeckung tritt, besonders bei α -Bestrahlung (O_2 -Bildung), ein ganz beträchtlicher Oberflächenanriff ein, der bei der Verfolgung der Mikrohäute zu Fälschungen führt.

Die Härteproben wurden mechanisch auf Hochglanz poliert, um möglichst genaue Ausmessung der Härteeindrücke zu gewährleisten. Da sich die Proben als nicht völlig homogen erwiesen, sondern Härteunterschiede um einige Prozent bei ihnen auftraten, wurden zur genauen Kennzeichnung der Härte jeweils über 50 Einzelmessungen herangezogen. Eine Genauigkeit von etwa 1 % konnte hierdurch erzielt werden. Trotz Ausdehnung der Bestrahlungszeiten auf über 300 Stunden bei α -Bestrahlung und über 100 Stunden bei β -Bestrahlung sind an homogenisierten Proben keinerlei Effekte der Bestrahlung nachweisbar gewesen.

Zur Verfolgung des Widerstandes als Funktion der Bestrahlungsintensität wurden die Versuchsdrähte in homogenisiertem und in ausgehärtetem Zustand (2 Stunden, 320° C) auf einen Kunststoffstreifen von etwa 15 mm Breite derart aufgewickelt, daß fünf Drähte knapp nebeneinander zu liegen kamen.

Die Widerstandsbestimmung erfolgte auf einer kombinierten Wheatstone-Thomson-Brücke, die in Wheatstone-Schaltung verwendet wurde. Als Null-Instrument dient ein Spiegelgalvanometer mit einer Spannungsempfindlichkeit von $1 \cdot 10^{-5}$ V/mm bei einem Skalenabstand von 1 m. Die Belastung der Proben konnte auf $5 \cdot 10^{-5}$ Watt herabgesetzt werden. Unter Einhaltung bestimmter Vorichtsmaßnahmen kann eine Genauigkeit der Widerstandsmessung von 0,1 % erzielt werden. Vor allem erwies es sich als wichtig, zur Stabilisierung die Proben nach dem Abschrecken kurze Zeit in Wasser zu kochen und einige Tage bei Raumtemperatur lagern zu lassen. Temperaturschwankungen müssen peinlichst vermieden werden, desgleichen jeglicher Oberflächenanriff der Proben durch das bei der Bestrahlung gebildete CuO . Die Proben wurden daher wieder durch eine Zaponlackfolie geschützt, die sich hier allerdings nicht völlig anschniegt. Da dieser Schutz jedoch ausreicht, um störende Oberflächenoxydation zu vermeiden, wurde durch Vergleichsversuche mit in Zaponlacklösung getauchten Drähten erwiesen, um die möglichen Fehlerquellen weitgehend auszuschalten, wurden die endgültigen Messungen als Relativmessungen zwischen zwei gleichgestrahlten Proben vorgenommen, von denen die eine bestrahlt und die andere unbestrahlt war. Das Ergebnis

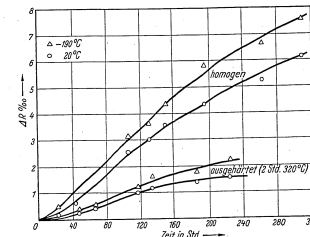


Abb. 1. Widerstandsänderung eines Cu-Be-Drahtes durch α -Bestrahlung

derartiger Versuche mit homogenisierten und ausgehärteten Proben ist für den Fall der α -Bestrahlung in Abb. 1 wiedergegeben. Der Widerstandsverlauf wurde außer bei 20° C auch bei —190° C durchgeführt; Aus der Abb. erkennt man zunächst, daß der Widerstandsanstieg bei den homogenisierten Proben mit der Zeit, also mit der Intensität der Bestrahlung, rascher erfolgt als bei den ausgehärteten. Es ergibt sich weiterhin, daß bei beiden Probenarten die Widerstandssteigerung bei der tiefen Temperatur größer ist als bei Raumtemperatur, was auf eine Erhöhung des Widerstands durch die Bestrahlung hindeutet.

Auch bei einer Bestrahlung mit Elektronen konnte ein, wenn auch nur geringer Effekt festgestellt werden. In Abb. 2 ist der Widerstandsanstieg bei 20° C einer mit Zaponlack überzogenen homogenisierten Probe dargestellt. An einem geringfügigen linearen Anstieg von 0,5 % in 46 Stunden schließt sich ein erheblich steilerer Anstieg an, der nach Erneuerung des Zaponlacküberzugs wieder auf die ursprüngliche Neigung zurückgeht. Offenbar war der Übergang im Verlauf der Messung unrichtig geworden. Eine zweite Versuchsreihe, bei der die beiden mit Zaponlack überzogenen Proben in ein abgeschlossenes, mit Stickstoff durchspültes Gefäß gebracht waren, führte zu der in Abb. 2 gezeichneten Widerstandssteigerung als Funktion der Zeit und damit der Bestrahlungsintensität. Der Verlauf entspricht dem Anfangsteil der zuerst besprochenen Kurve; der Unterschied ist z. T. durch verschiedene Präparatstärken bei den Versuchen bedingt. Eine Erwärmung der Probe von 15 Minuten auf 100° C beseitigt die Widerstandssteigerung weitgehend, ein deutlicher Hinweis dafür, daß es sich nicht um einen Oberflächeneffekt handelt. Daß es sich bei der Widerstandsabnahme nicht um eine Begleiterecheinung der thermischen Aushärtung handelt, geht daraus hervor, daß hierdurch ja eine Widerstandssteigerung bewirkt würde (6).

Gegenüber den mit Neutronenbestrahlung im Reaktor an Cu-Be-Legierungen erzielten Effekten bleiben die von uns durch α - und β -Bestrahlung erzielten weit zurück. Eine mechanische Härtung war durch α - und β -Bestrahlung über-

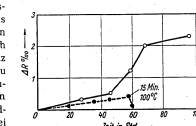


Abb. 2. Widerstandsänderung eines homogenisierten Cu-Be-Drahtes durch Elektronenbestrahlung

25X1

Page Denied

TEILNEHMER VERZEICHNIS

2. PLANSEE SEMINAR
"DER METALLICA"
VOM 19. BIS 23. JUNI
1955.

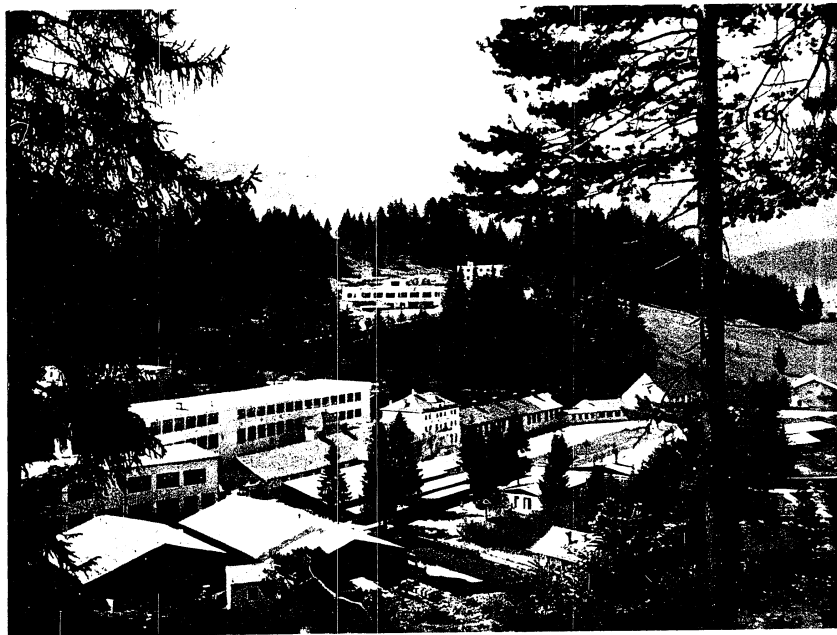
25X1

Page Denied

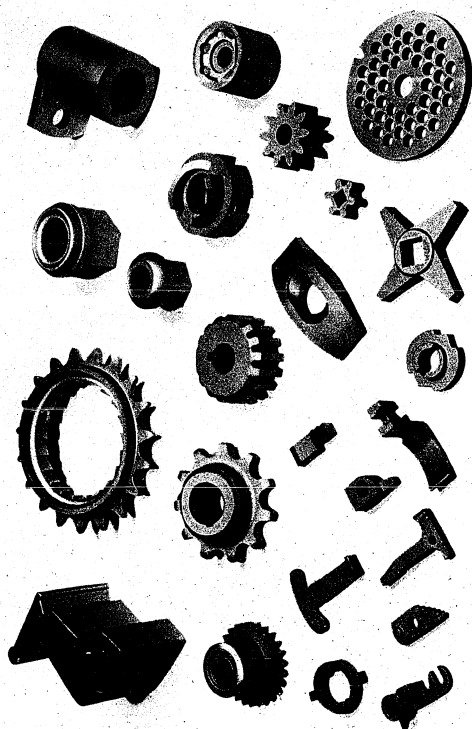
Next 6 Page(s) In Document Denied

SONDERDRUCK AUS AUSSERFERNER BUCH (SCHLERN-SCHRIFTEN 111)

DAS METALLWERK PLANSEE IN REUTTE



Metallwerk Plansee Ges. m. b. H., Reutte, Tirol, Ansicht der Werksanlagen, im Hintergrund der Thanneller Phot. A. Brenberger



punkte oder wegen Unmischbarkeit, überhaupt nicht legierbar sind. Das gilt z. B. für die technisch wichtigen Kontaktwerkstoffe Wolfram-Kupfer, Wolfram-Silber, Silber-Nickel u. a. Auch andere, sonst unmischbare pulverförmige Komponenten können durch Pressen und Sintern zu wertvollen Werkstoffen vereinigt werden, wie z. B. Metallkohlen, Diamantmetallwerkstoffe und die in der Werkzeugtechnik so wichtigen Wolframkarbid, Titankarbid, Tantalkarbid und Kobalt enthaltenden Hartmetalle. Neuestens werden auch Sintereisen- und Sinterstahl-Fertigformteile sowie Sintermagnete aus fertigungstechnischen Gründen hergestellt. Auf fast allen diesen Gebieten wird im Metallwerk Plansee sowohl in wissenschaftlicher als auch in technischer Richtung gearbeitet.

Es war der steigende Bedarf der Glühlampen- und Röntgenröhrenindustrie an Wolfram und der Bedarf der nach dem ersten Kriege sich stürmisch entwickelnden Radioröhrenindustrie an Molybdän, welcher Dr. Schwarzkopf 1921 zur Gründung der „Metallwerk Plansee G. m. b. H.“ bewog. Der landschaftlich wundervoll, verkehrstechnisch aber nicht sehr günstig gelegene Ort an der Grenze zwischen Tirol und Bayern hatte den Vorteil, daß die für die Erzeugung der hochschmelzenden Metalle erforderlichen großen Mengen an elektrischer Energie von dem in der Nähe gelegenen, der Stadtgemeinde Reutte gehörenden Wasserkraftwerk, welches vom Plansee gespeist wird, zu günstigen Bedingungen geliefert werden konnten. Aus kleinen Anfängen — das Werk beschäftigte anfangs zunächst etwa 50 Personen — konnten der Gründer und seine Mitarbeiter dann nach und nach durch tatkräftige und zielbewußte Entwicklungsarbeit ein Werk schaffen, welches heute zu den bekanntesten pulvermetallurgischen Betrieben der Welt gehört.

Zu den Erzeugnissen des Werkes nach der Gründung gehörte vornehmlich Molybdändraht und -blech für die Glühlampen- und Radioröhrenindustrie, sowie Formstücke aus Reinwolfram für die Röntgentechnik. Aus feinstem Wolfram- bzw. Molybdänpulver werden zunächst Stäbe gepreßt, welche im direkten Stromdurchgang bis nahe an den Schmelzpunkt erhitzt und dabei zum Sintern gebracht werden. Die Sinterstäbe werden dann durch Schmieden, Walzen, Hämmern und Ziehen zu Halbzeug verarbeitet.

Schon vor dem Ersten Weltkrieg wurde in allen wichtigen Industrieländern Wolfram- und Molybdändraht für die Glühlampenindustrie erzeugt. Der Bedarf stieg dann, durch die nach dem Kriege einsetzende großartige Entwicklung der Elektronenröhrentechnik und Radioindustrie so bedeutend an, daß 1928/29 ein neuer Zweigbetrieb in der Sillschlucht, südlich von Innsbruck, errichtet wurde, der wegen seiner günstigen Stromlage besonders für die Verarbeitung von Molybdän und Wolfram sowie anderen hochschmelzenden Metallen und Legierungen gedacht war.

Die Herstellung von Werkstoffen und Metallen für hochvakuumtechnische Zwecke setzt reinste Ausgangsmaterialien voraus. Die Erzeugung von reinstem

Molybdän- bzw. Wolframtrioxyd, den Ausgangsstoffen für die Metallherstellung, ist auf chemischem Wege verhältnismäßig umständlich. Das von P. Schwarzkopf und E. Schmidt entwickelte Verfahren zur Sublimation von Molybdänsäure gestattet auf einfache Weise, aus den unreinen Rohmaterialien (abgerösteter Molybdänglanz und Abfälle aus der Molybdänfertigung) zu hochreinem Molybdäntrioxyd zu gelangen. Die Molybdänsäure verdampft bei 700° bereits so stark, daß es gelingt, durch Sublimation eine Trennung von den Verunreinigungen zu erzielen, die bei dieser Temperatur noch nicht flüchtig sind.

Wolfram und Molybdän fanden, außer in den Glühlampen- und Röhrenindustrien, schon sehr bald in Form von Drähten und Bändern als Heizelemente in Hochtemperaturöfen Verwendung. Insbesondere um den Einsatz von Molybdän für diese Zwecke haben sich Betriebsleiter P. Werner und Ob.-Ing. F. Krall in Reutte große Verdienste erworben. Die heute in der Pulvermetallurgie und in anderen Industriezweigen benützten Hochtemperatur-Sinter-, Muffel- und Hämmeröfen werden zum Großteil mit Molybdänheizleitern ausgerüstet.

Die Berührung mit der Hochvakuumtechnik und der einschlägigen Industrie veranlaßten das Planseewerk in den Jahren 1930 bis 1935, weitere Werkstoffe für diese Zwecke auf dem Sinterwege zu erzeugen. Reinstes, aus Carbonyleisen-Pulver hergestelltes Eisen, vom Metallwerk Plansee unter der Bezeichnung Om met-Eisen in den Handel gebracht, dient als Elektrodenmaterial in Hochvakuumröhren. Weitere Legierungen, die unter Verwendung von Carbonyleisen- bzw. Carbonylnickelpulver gesintert werden, sind die ebenfalls vom Metallwerk Plansee erzeugten Sivar-Einschmelzlegierungen auf Eisen-Nickel-Kobalt-Basis und die Hastelloy-Legierungen auf Basis Nickel-Molybdän und Nickel-Molybdän-Eisen. Letztere werden vornehmlich in Form von Draht als Werkstoff für Gitter in Elektronenröhren und als Heizleiterwerkstoff verwendet. Größte technische Bedeutung hat das Carbonyleisenpulver aber dann später für die Erzeugung von weich- und dauermagnetischen Werkstoffen gefunden.

Die Verwendung von Wolframplättchen an Stelle von Platin als Kontaktmaterial in Zündmaschinen für Verbrennungsmotoren legte den Gedanken nahe, das Wolfram bzw. Molybdän mit seinem hohen Schmelzpunkt, seiner hohen Härte, der geringen Schweißneigung und dem geringen Abbrand auch für andere Schaltvorgänge als Kontaktwerkstoff zu benützen. Dem stand lediglich die geringe elektrische Leitfähigkeit im Wege. Vereinigt man Wolfram bzw. Molybdän mit anderen gut leitenden Metallen, wie Kupfer oder Silber — was schon 1916 in einem technisch ungenützten Patent vorgeschlagen wurde — so gelangt man zu Verbundwerkstoffen, welche als Kontaktmaterial für Hoch- und Niederspannungsschaltgeräte hervorragend geeignet sind. Diese Werkstoffe, die man wegen der Unlegierbarkeit der Einzelkomponente auf dem

Schmelzwege nicht herstellen kann, wurden 1931 von P. Schwarzkopf und seinen Mitarbeitern nach einem neuartigen Verfahren hergestellt und ab 1932 vom Planseewerk unter der Bezeichnung Elmet-Rotung (W-Cu) und Elmet-Silvung (W-Ag) erstmalig in den Handel gebracht.

Die Tatsache, daß die Entwicklung der gesinterten Hartlegierungen auf Wolframkarbid- und Wolframkarbid-Titankarbid-Basis im wesentlichen von der Molybdän- und Wolframindustrie geleistet wurde, ist mit deren Kenntnis der pulvermetallurgischen Arbeitsweisen und dem „know how“ auf dem Sintergebiete zu erklären. 1922 gelang K. Schröter in Berlin die Sinterung von pulverförmigem Wolframkarbid mit Kobalt als Bindemetall und damit die Herstellung des ersten großtechnisch verwendbaren Sinterhartmetalles. Die Einführung dieses ganz neuartigen Werkstoffes hat in der Folge die Zerspannungstechnik revolutionierend beeinflusst. Die Sinterhartmetalle auf Wolframkarbid-Kobalt-Basis waren besonders für die Bearbeitung kurzspannender Werkstoffe, z. B. Gußeisen und Buntmetalle, geeignet, während sie bei der Stahlbearbeitung wegen starken Verschleißes durch den langen Span versagten. Hier brachten die bahnbrechenden Entwicklungsarbeiten von P. Schwarzkopf, I. Hirschel und C. Ballhausen sowie insbesondere von R. Kieffer in den Jahren 1929 bis 1931 den entscheidenden Fortschritt. Bildet man mit Wolframkarbid oder Molybdänkarbid und Karbiden, z. B. des Titans, Vanadins und Tantal Karbidmischkristalle und sintert diese mit Kobalt oder Nickel als Bindemittel, dann erhält man Hartmetallsorten mit hoher Zähigkeit und geringer Schweißneigung, welche für die Stahlbearbeitung auch bei höchster Schnittgeschwindigkeit hervorragend geeignet sind. Diese Hartmetalle wurden in zahlreichen Patenten des Werkes geschützt und gelangten unter der Bezeichnung Titanit U 1, U 2 und U 3, später S 1, S 2 und S 3 in den Handel.

1931 wurde gemeinsam mit den Deutschen Edelstahlwerken Krefeld die Titanit G. m. b. H. gegründet, welche die Fabrikation von Hartmetall Titanit — heute Tizit — im Bau des Höhlenlaboratoriums des Metallwerkes Plansee aufnahm. Die Betriebsleitung übernahm der noch heute dem Werke und Dr. P. Schwarzkopf in Freundschaft nahestehende Ing. C. Ballhausen. Hier ist auch des verstorbenen Betriebsleiters Ing. S. Heiß zu gedenken, der von 1933 bis 1945 die Hartmetallabteilung führte.

Die Bearbeitung von Formstücken aus Sinterhartmetall ist praktisch nur mit Diamant möglich, und das Bedürfnis, diesen idealen Hartstoff in Feinpulverform der Schleiftechnik nutzbar zu machen, führte nach mechanischen Einbettungsversuchen des Diamantkornes in geschmolzene metallische oder Kunstharz-Grundmassen zur pulvermetallurgischen Herstellung der Diamantmetalllegierungen. Man sintert feinen Diamantboart¹ in Metallpulver

¹ Diamantboart sind für Schmuckzwecke unbrauchbare, undurchsichtige Industriediamanten.

verschiedener Art und Zusammensetzung, z. B. Eisen-Nickel, Eisen-Kupfer oder Hartmetalllegierungen, ein und bringt diesen Werkstoff in Form eines Belages auf die Schleifwerkzeuge auf. Der Bedarf für derartige Werkzeuge stieg natürlich mit dem Einsatz von Hartmetall immer mehr an, so daß das Metallwerk Plansee mit der Hartmetallerzeugung auch die Erzeugung von Diamantmetallwerkstoffen und hartmetallgebundenen Abriechtwerkzeugen nach Patenten von R. Kieffer und S. Heiß unter der Markenbezeichnung Ultra-Titanit, später Diatit, aufnahm.

Die geschilderten Entwicklungsarbeiten, die von dem weitblickenden Gründer und seinem Mitarbeiterstab geleistet wurden und welche die technische Bedeutung der Pulvermetallurgie entscheidend erweiterten, fallen in eine Zeitspanne, in der das Werk infolge der allgemeinen Wirtschaftskrise und der damaligen politischen Lage Österreichs mit großen Exportschwierigkeiten und mit Rohstoffknappheit zu kämpfen hatte.

Im Zuge der Besetzung Österreichs erfolgte 1938 die Übernahme der Gesellschaft durch die Deutsche Edelstahlwerke A. G., Krefeld. 1939 und zu Beginn des Zweiten Weltkrieges wurde das Werk in das allgemeine Wehrprogramm eingereiht, blieb jedoch ausschließlich auf dem Sintergebiet tätig. Die Molybdän- und Wolframfertigung wurden ebenso wie die Erzeugung von Hartmetall und Verbundlegierungen gesteigert.

In die Kriegsjahre fällt auch die sprunghafte Entwicklung der Eisenpulvermetallurgie, einer Technik, bei der man aus Eisen- und Stahlpulver Fertigformteile mit Eisen- bzw. Stahleigenschaften herstellt. Das Sinterverfahren im Sinterisen und Sinterstahl tritt in Konkurrenz zu anderen Massenfertigungsverfahren, wie Temperguß, Spritzguß, Präzisionsguß, Gesenkschmieden, Blechprägen, spanabhebender Formgebung u. a. und eroberte sich einen festen Platz unter den verschiedenen Verfahren der Stahlformgebung. Eine Anlage für die Herstellung von Granatführungsringen aus Sinterisen hatte eine Monatskapazität von etwa 120 Tonnen. Für diese Fertigung waren die Werkstoffeigenschaften des Sinterisens — Porosität und Plastizität — entscheidend.

In der zweiten Kriegshälfte begannen die Entwicklungsarbeiten am Werkstoff Sinterstahl, und gegen Kriegsende wurden auf Grund der Forschungsarbeiten von R. Kieffer, W. Hotop und F. Benesovsky bereits etwa 10t/Monat Maschinen- und Geräteteile aus Eisen-Graphit-Pulver gepreßt und gesintert, wobei man bei vergüteten Teilen die Eigenschaften eines gewöhnlichen Kohlenstoffstahles mit etwa 0,9% C erreichte.

Die 1935 bis 1937 begonnene Entwicklung von gesinterten Dauermagneten führte während des Krieges zu einer Fertigung von etwa 12t/Monat, nach dem Verfahren von R. Kieffer und W. Hotop. Die Fe-Al-Ni-Legierung nach Mishima, aus welcher üblicherweise Körper durch Form- oder Präzisionsguß gewonnen werden, kann auch aus den Einzelpulverkomponenten oder

aus Vorlegierungspulvern durch Pressen und Sintern „synthetisiert“ werden. Man kann auf diese Weise Fertigformteile herstellen, welche nur geringer Nacharbeit bedürfen und welche im Vergleich zu Teilen aus der Schmelzlegierung, bei etwa gleichen magnetischen Eigenschaften, feinkörnigeres Gefüge haben.

Zwei Monate nach Kriegsende nahm das Werk die Arbeit wieder auf. Zunächst wurde eine im Werk entwickelte Heizleiterlegierung auf Fe-Al-Basis durch Sinterung erzeugt und Keramikteile für elektrotechnische Zwecke sowie Heizplatten und Raumstrahler nach Vorschlägen von S. Heiß hergestellt. Diese Zwischenfertigung, welche der österreichischen Wirtschaft über einen bedeutenden Engpaß hinweghalf, machte bald wieder dem üblichen Fertigungsprogramm des Werkes Platz. Lediglich in der Sinterabteilung war unter Ausnützung des vorhandenen Pressen- und Ofenparkes eine Umstellung auf eine wirtschaftliche Friedensfertigung erforderlich, die dann auch ab 1946 in beachtlichem Umfang in Gang kam und die österreichische Fahrzeug-, Kleinmaschinen- und Beschlägeindustrie mit Formteilen aus Sintereisen und Sinterstahl versorgte. Die Erfahrungen, welche man während des Krieges auf dem Gebiete der Sinterstahlerzeugung gesammelt hatte, konnten sehr nutzbringend auch für die Nachkriegsfertigung ausgenützt werden.

Auch die Erzeugung von Titanit-Hartmetall wurde kurz nach Kriegsende wieder aufgenommen. Betrieblich war es hier erforderlich, die Qualität weiter zu verbessern und neue Sorten einzuführen, für die von verschiedenen Seiten Bedarf bestand. Versuche, die bis in das Jahr 1932 zurückgehen, haben ergeben, daß durch Hinzufügen von Tantalkarbid zu Wolframkarbid-Titankarbid-Mischkristallen die Zähigkeit der daraus hergestellten Hartmetalle bei gleicher Drehleistung gesteigert werden kann. Die bereits mehrere Jahre früher geplante und vorbereitete Fertigung derartiger Hartmetalle führte 1950 durch R. Kieffer und F. Kolbl im großtechnischen Maßstab zur Einführung der tantalhaltigen neuen Tizit-Sorten für die Bearbeitung langspanender Werkstoffe.

Das Zweigwerk Sill, welches während des Krieges ausschließlich für die Molybdän- und Wolframerzeugung gearbeitet hatte, ergänzte nach Kriegsende das Erzeugungsprogramm des Hauptwerkes durch Wolframpulver, geschmolzenes Wolframkarbid für Aufschweißzwecke und Sonderziehsteine. Es erzeugt ferner das für die Hartmetallfertigung erforderliche Titankarbid sowie Karbidmischkristalle. Die Sintermagnetfertigung wurde 1948 von Reutte ins Sillwerk verlegt. Eine Vakuum-Lichtbogenmelzanlage für Molybdän wurde 1952 in Betrieb gesetzt. Im Sillwerk wird auch eine Schwermetalllegierung auf Wolframbasis gesintert.

Neben der Deckung des Inlandbedarfes arbeitet das Planseewerk heute mit 60 bis 70% seiner Kapazität für den Export. Da es sich bei den Erzeugnissen um sehr hochwertige Veredelungsprodukte handelt, so fließen, obwohl die Rohstoffe, wie Molybdänglanz, Wolframsäure, Kobaltpulver

Titandioxyd und Diamanten, größtenteils aus dem Ausland eingeführt werden müssen, dem österreichischen Staat bedeutende Devisenbeträge zu.

Die unmittelbar nach Kriegsende einsetzenden Verhandlungen zur Rückgabe des Werkes an Dr. P. Schwarzkopf führten 1948 zur rechtlichen Klärung und 1952 zur Durchführung der Restitution.

Wie die vorangehenden Ausführungen zeigten, kann ein Werk, welches sich mit einem so jungen Gebiet beschäftigt, wie es die Pulvermetallurgie ist, nur durch intensive Forschungstätigkeit mit der Entwicklung Schritt halten. Der immer größer werdende Umfang der Forschungsarbeiten führte daher 1940 zur Gründung einer zentralen Versuchsanstalt, welcher auch eine Patentabteilung angegliedert wurde. Die gesammelte Entwicklungs- und Forschungstätigkeit fand dann in der Herausgabe des Buches „Pulvermetallurgie und Sinterwerkstoffe“ durch R. Kieffer und den Leiter der Versuchsanstalt, W. Hotop, im Jahre 1943 ihren Niederschlag. Das Werk wurde in die französische Sprache übersetzt und erschien 1948 in zweiter deutscher Auflage. Die insbesondere während des Zweiten Weltkrieges gesammelten Erfahrungen auf dem Gebiete der Eisenpulvermetallurgie wurden von R. Kieffer und W. Hotop, H. J. Bartels und F. Benesovsky in dem 1948 erschienenen Werk „Sintereisen und Sinterstahl“ zusammengefaßt, welches 1951 ebenfalls ins Französische übersetzt wurde. Diese beiden Standardwerke der Pulvermetallurgie und zahlreiche wissenschaftliche Veröffentlichungen in in- und ausländischen Fachzeitschriften haben nicht wenig zum guten Ruf der österreichischen Wissenschaft und Technik beigetragen. Für ein drittes Werk „Hartstoffe und Hartmetalle“, welches in englischer Sprache in New York und in deutscher Sprache in Wien verlegt wurde, zeichnen R. Kieffer, P. Schwarzkopf, F. Benesovsky und W. Leszynski als Autoren.

Abschließend darf nicht unerwähnt bleiben, daß sich durch Vergebung von Forschungsaufträgen an österreichische Hochschulen, insbesondere an Prof. Dr. G. F. Hüttig, Institut für anorganische und physikalische Chemie der Technischen Hochschule in Graz, und Prof. Dr.-Ing. H. Nowotny, Institut für physikalische Chemie der Technischen Hochschule und I. Chemisches Laboratorium der Universität Wien, eine sehr fruchtbare Zusammenarbeit zwischen wissenschaftlichen Instituten und deren Industrie ergeben hat, welche ebenfalls ihren Niederschlag in zahlreichen wissenschaftlichen Veröffentlichungen fand.

Neben den bedeutenden wissenschaftlichen und technischen Beiträgen des Metallwerkes Plansee sollen aber auch nicht die großen sozialen Leistungen seines Besitzers und der Werksleitung vergessen werden. Von den heute etwa 750 Arbeitern und Angestellten des Werkes stammt der weitaus größte Teil aus Reutte und der näheren Umgebung. Seit Kriegsende wurde durch eine großzügige Siedlungssaktion der drückenden Wohnungsnot abgeholfen. Im

Werksbesitz sind 40 Wohnungen, einer Siedlungsgesellschaft gehören 93 Wohnungen, weitere sind im Bau.

Ende 1950 hat das Werk eine Unterstützungskasse gegründet, die mit einer Zuweisung von über einer Million Schilling den Grundstock für den Altersfond bildet. Außerdem ist die Unterstützungskasse zu 98% Gesellschafter der Siedlungsgenossenschaft.

Ein Schwimmbad in herrlicher Lage und eine Sauna sorgen für die körperliche Ertüchtigung, eine durch laufende Neuerwerbungen sich vergrößernde Bibliothek für die geistige Erfrischung der Gefolgschaft. Große Sorgfalt wird auch der Lehrlingsausbildung gewidmet und das voriges Jahr in Reutte gegründete Privatgymnasium wird großzügig unterstützt.

Eine tadellos eingerichtete Werksküche verpflegt einen Großteil der Gefolgschaft zu billigsten Preisen.

Überblickt man dieses gesamte Sozialwerk, dann kann man ohne Übertreibung sagen, daß die Aufwärtsentwicklung von Reutte und der Ortschaften des Talkessels zum großen Teil auf das Metallwerk Plansee zurückzuführen ist.

Anschrift der Verfasser: Direktor Rr. R. Kieffer und Dr. Ing. F. Benesovsky, Metallwerk Plansee, Reutte i. T.

25X1

Page Denied

Next 45 Page(s) In Document Denied

DIPL.-ING. R. WERNER

WERKSTOFFPRÜFUNG

METALLOGRAPHIE

LABORBEDARF

LEOBEN/Stmk., ERZHERZOG-JOHANNSTRASSE 9

PAUL HAACK

Inhaber: Wilhelm & Alfred Haack

WIEN IX/68 · GARNISONGASSE 3

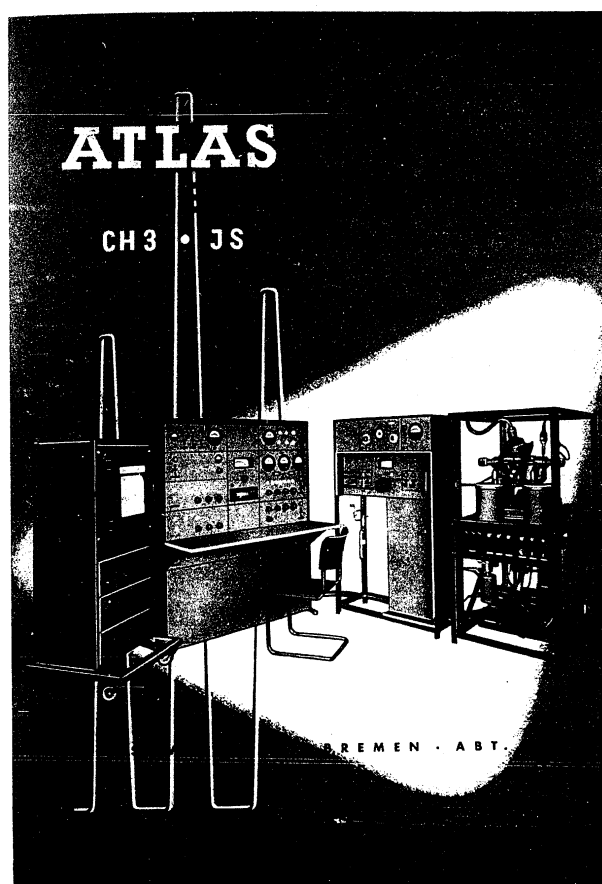
Ruf: Büro A 202 99, Verkauf B 435 95

Glasbläserei, Schleiferei
und Werkstätte für
Laboratoriumsartikel,
Elektro- und mikro-
chemische Apparate,
Lager von
Laboratoriumsgeräten

Mikrochemie-Tagung vom 12. bis 17. Juli 1955

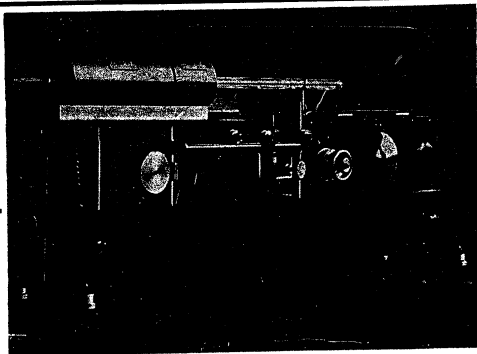
Ausstellung mikrochemischer Apparate im II. Chemischen Universitäts-
Laboratorium, Wien IX, Währingerstraße 38

Besuchen Sie auch die Apparateausstellung in unseren neuen Verkaufsräumen, Wien IX, Garnisongasse 3 (in der Nähe des Tagungsgebäudes)



Quantitative Analysen polynärer Gemische, speziell Kohlenwasserstoffanalysen
Qualitative Analysen · Mikroanalysen · Reinheitsprüfungen · Isotopenhäufigkeits-
bestimmungen für Indikatoruntersuchungen mit stabilen Isotopen, für geologische
Altersbestimmungen und für kernchemische Analysen.

ANALYSEAPPARATE UND PRÜFGERÄTE FÜR FORSCHUNG UND BETRIEB-REAGENZIEREN



Kolorimetrische Analyse
Jean et Constant Spektrophotometer zur
Kolorimetrische Analyse im sichtbaren
Gebiet.

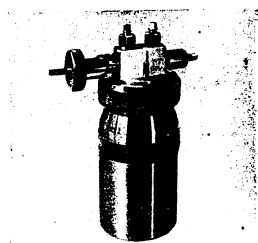
Korngrößenbestimmung
F. Martin registrierende Waage zur
Sedimentationsanalyse. Schlammapparate.

Hochdruckautoklaven
Aus rostfreiem Stahl. Schneller Verschluß.
Hochdruckventile mit Teflondichtung.

Physikalische Messungen
Dogram-Abricht-Tensiometer zur Ober-
flächenspannungsmessung. Thermostaten-
Präzisionsthermometer

Analysen Schnellwaage
Eichgewichte

Microverbrennungsautomat nach F. Martin
zur elementar CH und N Dumas Bestimmung
Mikroanalysenapparate aller Art

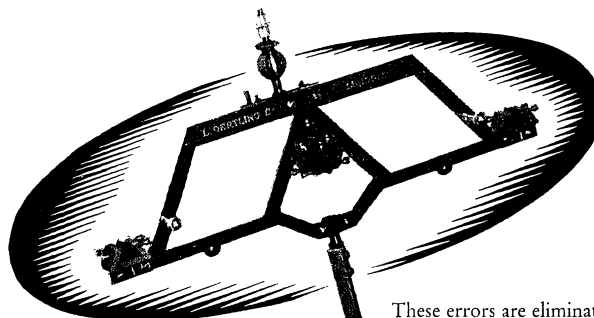


Verbrennungsbomben aus rostfreiem Stahl
Schneller Handverschluß - Moderne Kalorimeter
mit Heizung des äußeren Bades.

12 RUE PELÉE
PARIS-XI:

PROLABO

Look No Riders!



OERTLING'S latest
development means accuracy
to the nearest MICROGRAM!

It is well established that the rider system, even
in the hands of the most skilled user, can cause
errors of up to 20 μ gm. 1. 2. 3.

Now Oertling introduce two new balances that
weigh by pan weights, multiweights and direct scale
reading only. MODEL 146 has direct-reading
sensitivity 20 μ gm, MODEL 147 has direct-reading
sensitivity 2 μ gm, and makes possible, for the first
time, RESULTS CORRECT TO THE NEAREST
MICROGRAM!

★ REFERENCES

- 1 Corner & Hunter, The Analyst 66, 149-154, April '41
- 2 Kuck, Journal of Chemical Education, 574-583, Dec. '42
- 3 Rodden & Kuck, Industrial and Engineering Chemistry
15, 415-416, June '43.
- 4 Lindner, Mikrochemie 34, 67-105, 1948.

PLEASE SEND FOR FULL DETAILS TO:

L. Oertling Ltd., Cray Valley Road, St. Mary Cray, Orpington, Kent.
Telephone: Orpington 25771 (5 lines)

These errors are eliminated⁴

DIVISION ERRORS
Longitudinal errors of notch-position.
0.0005" error can cause 1 μ gm.
weighing-error.

DISLOCATION ERRORS
Longitudinal displacements of the
rider in the notch. Again 0.0005"
error can cause 1 μ gm weighing-
error.

ANGULAR ERRORS
An angular displacement of the
rider in the notch of 0.2° can
cause 1 μ gm weighing-error.

MASS ERRORS
Deviation in the mass of the
rider must not be more than
 ± 50
 μ gm for a nominal 5 mg.

a rider if the reading error is not
to exceed 1 μ gm when the
rider is moved through n
notches, depending on the
distance between successive
positions.

Where several weightings
are involved, small errors
like these can add up
to a significant total.

OERTLING

ANALYSENSCHNELLWAAGEN



mit Projektionsablesung und automatischer
Gewichtsaufflage, sowie Feinwaagen in den
verschiedensten Ausführungen und Gewichte

Erzeugt u. repariert preisgünstigst:

DIPL.-ING. A. KRONEIS

FEINMECHANISCHER GERÄTEBAU

WIEN XIX, IGLASEEGASSE 30 – 32 / TELEFON B-12-0-92

25X1

Page Denied

Next 8 Page(s) In Document Denied

Microchimica Acta (Tagung).
O/l.

Zeilenanzahl: 443.

Versuche über mikrochemische und mikro-physikalische Prüfungsmöglichkeiten an medizinisch wichtigen Pyridin-Derivaten.

Von

F. Lüdy-Tenger, Burgdorf, Schweiz.

Mit 6 Abbildungen.

(Eingelangt am 16. März 1955.)

Gelegentlich des 1. Internationalen Mikrochemischen Kongresses in Graz im Jahre 1950 versuchte ich, zu zeigen, daß mikrochemische und mikrophysikalische Methoden auch im *Laboratorium des praktizierenden Apothekers* oft sehr dienlich sein können¹. Als letzte Illustration meiner Ausführungen zeigte ich ein farbiges Diapositiv, das Bild einer damals noch unveröffentlichten Kristallfällung, die entsteht, wenn mein Reagens „Bi I“, ein Wismut-Jodkalium-Komplex, mit Nicotylamid zusammenkommt.

In den seither vergangenen Jahren habe ich mich eingehender mit den medizinisch interessanten *Pyridin-Derivaten* befaßt und die Resultate in verschiedenen Zeitschriften veröffentlicht²⁻⁴.

Im folgenden möchte ich eine Zusammenfassung, ergänzt durch noch unveröffentlichte Resultate, geben.

Es erwies sich, daß eine ganze Anzahl medizinisch verwendeter Pyridin-Derivate sich auf denkbar einfache Weise mikrochemisch unterscheiden, ja sogar identifizieren läßt; mehr noch, daß man mit einem Tröpfchen Nicäthamidum (Phantasiename: Coramin) eine *quantitative Bestimmung* dieses sehr viel verwendeten Medikamentes durchführen kann. Ich fand, daß das ursprüngliche Reagens „Bi I“ einen etwas verstärkten Salzsäuregehalt aufweisen müsse, um ganz zuverlässige Identitätsreaktionen zu geben. Dieses verstärkte Reagens wurde bezeichnet mit „Bi I 1,5“, womit ein Hinweis auf den Salzsäuregehalt gegeben werden soll. Dieses Reagens ist eine der vielen Modifikationen des Dragendorff-Reagens. Es hat die Zusammensetzung:

Rp. Bismuti subcarbonici	0,5
Acidi hydrochlorici conc.	1,5
Kalii iodati	4,0
Aquae destillatae	ad 10,0 ml.

Dieses Reagens kann in jeder Apotheke rasch und mühelos sofort bereitete werden. Mit einem Tropfen dieser Lösung können eindeutig identifiziert werden:

1. Nicotylamid.
2. Nicotinsäure.
3. Isonicotinsäure.
4. Isonicotinsäure-Hydrazid (Rimifon).
5. Nicotinsäure-Hydrazid.

Schon die Mikrosublimat dieser fünf Körper unterscheiden sich wesentlich voneinander, wie die Mikrophotographien in unsern erwähnten Teilpublikationen zeigen. Wir erwähnen dies allerdings nur der Vollständigkeit wegen, denn niemand wird bloß aus Kristallformen von Sublimaten schon Schlüsse ziehen. Die Mikrosublimat zeigen folgende Characteristica, wobei eine 5-mm-Ring-Gaskammer auf unserm „T. B. Block“ verwendet wird⁵:

- | | |
|-----------------|---------------------------------------|
| 1. Nicotylamid: | Blocktemperatur ca. 120°. |
| | Rhomben mit Winkeln von 80° und 100°; |
| | gerade Lösung. |

2. Nicotinsäure: Blocktemperatur ca. 160°. Scharfkantige, kurze, derbe Rechtecke; gerade Löschung.
3. Isonicotinsäure: Blocktemperatur ca. 180°. Derbe, kurze, schiefgeschnittene Prismen, oft Fünfecke; Löschung unbestimmt, an länglichen Kristallen gerade.
4. Isonicotinsäure-Hydrazid (Rimifon): Blocktemperatur ca. 150° bis 160°. Längliche Prismen mit stumpfwinkligen Enden; gerade Löschung.
5. Nicotinsäure-Hydrazid: Blocktemperatur ca. 150° bis 160°. Flächige Blättchen, stellenweise Nadeln; gerade Löschung (Abb. 1.)

Von den erwähnten Substanzen sind als Arzneimittel in Tablettenform im Handel Nicotylamid (Vi-Nicotyl „Wander“), Nicotinsäure (Niconacid „Wander“) und Isonicotinsäure-Hydrazid (Rimifon „Roche“). Um eine Identitätsreaktion mit „Bi I 1,5“ durchzuführen, versetzt man auf einem Objektträger ganz wenig vorsichtig abgekratzte Tablettenmasse mit einem kleinen Tropfen „Bi I 1,5“, dann bedeckt man mit einem Bruchstück eines Deckglases. Nach einigen Minuten treten die charakteristischen Kristallbildungen auf. Dabei stören die Tablettierzusätze nicht. Man kann die abgeschabte Tablettenmasse natürlich mit Vorteil auch durch Mikrosublimation vorreinigen. Reinsubstanz von „Rimifon“ gewinnt man elegant, indem man 1 Tablette mit Methanol trinkt, hierauf mit Chloroform auszieht und filtriert. Nach Verdampfen des Lösungsmittels hinterbleibt Isonicotinsäure-Hydrazid analysenrein, mit $Fp = 166,5^\circ$ bis 167° .

Die erwähnten Pyridin-Derivate reagieren mit „Bi I 1,5“ meist so, daß zuerst rote Tropfen entstehen, die dann bald in ganz charakteristischen Formen kristallin werden. Anwendung von Wärme ist unnötig. Auch hier begnügt man sich nicht, Kristallformen festzustellen. Man muß die Reaktionsprodukte wenn möglich noch näher untersuchen, am einfachsten auf ihre Löslichkeit im polarisierten Licht hin.

Mit „Bi I 1,5“ entstehen aus:

1. Nicotylamid: Rotleuchtende Nadeln und schiefgeschnittene Prismen, auch Sphärökrystalle. Selten rote, sechseckige Tafeln mit Spitzenwinkel von 101° , anliegende Winkel 127° und 132° . Löslichkeit immer gerade.
2. Nicotinsäure: Rotleuchtende, kurze, derbe und scharfkantige Rhomben. Stumpfer Winkel von 129° . Löslichkeit schief, im Mittel 33° zur Längsrichtung.
3. Isonicotinsäure: Rotleuchtende, längliche, scharfkantige Rhomben. Stumpfer Winkel (wie bei Nicotinsäure) von 129° . Löslichkeit schief, im Mittel 36° zur Längsrichtung.
4. Isonicotinsäure-Hydrazid: Rotleuchtende, wetzsteinförmige Kristalle, welche zu derben Agglomeraten auswachsen. Nicht sehr befriedigende Reaktion, immerhin von andern Fällungen unterscheidbar.
5. Nicotinsäure-Hydrazid: Rotleuchtende, sehr derbe, rechtwinklige, kurze Prismen. Löslichkeit gerade. Daneben vereinzelte Rhomben mit schiefer Löslichkeit von 33° , welche auf Verunreinigung mit Nicotinsäure deuten, oder von abgespalteter Nicotinsäure herrühren können (Abb. 2).

Da die soeben erwähnte Fällung des Rimifons wenig befriedigende Kristallformen zeigt, suchte ich nach einer präziseren mikrochemischen Charakterisierung dieses Arzneistoffes. Mit Vorteil bedient man sich der bekannten Reaktion, die eintritt zwischen Aldehyden und Ketonen mit der endständigen NH_2 -Gruppe der Hydrazide. Benzaldehyd erwies sich als sehr geeignet nicht nur deswegen, weil er in jeder Offizin zur Verfügung steht, sondern weil er so rasch mit Rimifon reagiert, daß diese Kristallbildung photographisch kaum festgehalten werden kann. Der entstehende Körper, das *Benzalisonicotinsäure-Hydrazid*, von der Formel $\text{NC}_5\text{H}_4 \cdot \text{CO} \cdot \text{NH} \cdot \text{N} : \text{CH} \cdot \text{C}_6\text{H}_5$ ist, wie die Rimifonsubstanz selbst, ja auch schon längst bekannt. Beide Körper wurden bereits 1912 beschrieben⁶.

Meyer und Mally geben für Isonicotinsäure-Hydrazid einen $Fp = 163^\circ$ an, während wir immer wieder 166° bis 167° finden. Vom Benzalisonicotinsäure-Hydrazid geben die erwähnten Autoren keinen Schmelzpunkt an. Wir bestimmten ihn mit 191° bis $191,5^\circ$ (unkorr.).

Auch ein Reaktionsprodukt des Rimifons mit Vanillin, das 3-Methoxy-4-oxybenzalisonicotinsäure-Hydrazid wird bereits von Meyer und Mally erwähnt.

Ich habe eine ganze Reihe Aldehyde und Ketone mit Rimifon geprüft und die Reaktionsprodukte auf Schmelzpunkt und Löslichkeit sowie auf Kristallformen untersucht³.

Für die Bedürfnisse des praktizierenden Apothekers genügen die Reaktionen mit Benzaldehyd und mit Vanillin vollkommen.

Diese Reaktionen führen wir aus wie folgt:

Einige Kriställchen eines festen Aldehydes werden in einem Meßgläschen (wie solche den pharm. Spezialitäten oft beige packt sind) in einigen Tropfen Äthanol gelöst. Flüssige Aldehyde gibt man ohne Äthanol ins Meßgläschen. Hierauf fügt man ca. 1 ml einer ca. 10%igen wäßrigen Rimifonlösung zu und schüttelt energisch. Das Reaktionsprodukt kristallisiert bald. Es wird auf einem Papierfilterchen oder auf einer 1-cm-Glasnutsche „G 1“ gesammelt. Man kristallisiert um, durch Lösen in wenig Äthanol und Zugabe von wenig Wasser zum klaren Filtrat.

Rimifonlösung gibt auf diese Weise:

1. Mit *Benzaldehyd*: Benzalisonicotinsäure-Hydrazid. Nadeln mit gerader Löslichkeit. $Fp = 191^\circ$ bis $191,5^\circ$ (Abb. 3).
2. Mit *Vanillin*: 3-Methoxy-4-oxybenzalisonicotinsäure-Hydrazid. Gelbliche, schiefgeschnittene Prismen und Nadeln mit gerader Löslichkeit. $Fp = 222,5^\circ$ bis 224° (Abb. 4).

Erst in letzter Zeit befaßte ich mich auch mit dem *Nicotinsäure-Hydrazid*, das, soviel mir bekannt ist, vorläufig noch nicht medizinisches Interesse hat, jedoch Verwechslungen mit dem Isonicotinsäure-Hydrazid veranlassen könnte. Bei Bearbeitung neuer Arzneibücher wird daher auch dieser Körper studiert. Ich habe bereits erwähnt, daß man beide Körper leicht schon mit 1 Tropfen „Bi I 1.5“ unterscheiden kann, da die Reaktionsprodukte nicht zu verwechseln sind. Es blieb nun noch zu prüfen, wie sich *Nicotinsäure-Hydrazid* den verschiedenen Aldehyden gegenüber verhält. Zur Gegenüberstellung der soeben erwähnten Rimifon-Reaktionen mit Benzaldehyd einerseits, Vanillin andererseits, seien hier vorläufig die gleichen Reaktionen mit Nicotinsäure-Hydrazid vorweggenommen. Auch hier verwenden wir eine ca. 10%ige wäßrige Lösung.

Nicotinsäure-Hydrazid-Lösung gibt:

1. Mit *Benzaldehyd*: Benznicotinsäure-Hydrazid. Weißer Niederschlag aus Nadeln und Prismen. Gerade Löslichkeit. Bei der Schmelzpunktsbestimmung entsteht um 90° herum eine teilweise Schmelze, aus welcher neue Prismen hervorstehen. $Fp = 146,5^\circ$ bis 148° (Abb. 5).
2. Mit *Vanillin*: 3-Methoxy-4-oxybenznicotinsäure-Hydrazid. Kristalliner, gelblicher Niederschlag, aus Äthanol in Tafeln und Rhomben, aus verdünntem Äthanol in Nadelbüscheln kristallisierend. Löslichkeit: Gerade.

Bei der Schmelzpunktsbestimmung bildet sich langsam, zwischen ca. 102° und 108°, eine ölige Masse, die bei ca. 150° wieder in derben Prismen kristallisiert, worauf der Schmelzpunkt $Fp = 203^\circ$ bis 205° gefunden wird (Abb. 6).

Diese Mikrobeobachtung bestätigte sich im Makroversuch: Es wurde in einem Reagensglas eine kleine Menge der gelben Vanillin-Nicotinhydrazid-Verbindung erhitzt, die Temperaturen mit eingestecktem Thermometer kontrolliert. Um 100° bis 105° wurde die Schmelze gelb, dann wieder fest. Bei 195° bis ca. 200° entstand eine dunkelgelbe Schmelze. Nach deren Erkalten wurde sie in heißem, konz. Äthanol gelöst. Aus dem klaren, gelben Filtrat schieden sich tafelförmige, gelbe Kristalle ab. Bei der Bestimmung des Schmelzpunktes dieser gelben Substanz wiederholten sich die Vorgänge, wie oben beschrieben. Man erhielt den Wert $Fp = 204^\circ$ bis 207°. Aus diesem Versuch scheint mir ergibt sich, daß diese sonderbaren Zwischen-Halbschmelzen als „Modifikationen“, sicher nicht als Zersetzungen zu deuten sind. Vielleicht auch treten Umlagerungen ein, die Verbindung als solche bleibt aber bestehen und kann aus der Schmelze mit Äthanol und Wasser wieder in die ursprüngliche Form gebracht werden.

Die Reaktionsprodukte verschiedener Aldehyde mit Rimifon einerseits, mit Nicotinsäure-Hydrazid andererseits, sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Tabelle 1.

Aldehyd	Reaktionsprodukte mit wäßrigen 10%igen Lösungen von	
	Isonicotinsäure-Hydrazid (Rimifon)	Nicotinsäure-Hydrazid
Benzaldehyd (flüssig).	Nadeln. Gerade Löschung. $Fp = 191^\circ$ bis 191,5°.	Nadeln und Prismen. Gerade Löschung. Um 90° teilweise Schmelze, worauf sich neue Prismen bilden. $Fp = 144^\circ$ bis 146°.
o-Nitrobenzaldehyd $Fp = 42,5^\circ$ bis 43,5°.	Fiedrige Kristalle. Schiefe Löschung (17°). $Fp = 224^\circ$ bis 226°.	Nadelbüschel. Gerade Löschung. Um 110° Umlagerung. $Fp = 185^\circ$ bis 187°.
m-Nitrobenzaldehyd $Fp = 55,5^\circ$ bis 57°.	Rhombische Blättchen. Gerade Löschung. $Fp = 219^\circ$ bis 221°.	Kleine Nadelbüschel. Gerade Löschung. Um 105° Umlagerung, teilweise Tropfenbildung, aus denen neue Nadelbüschel wachsen. $Fp = 175^\circ$ bis 177°.
p-Nitrobenzaldehyd $Fp = 105,5^\circ$.	Gelbe Prismen. Bei ca. 260° Sublimat von derben Prismen. Löschung schief (im Mittel 57°). $Fp = 267^\circ$ bis 268°.	Gelbe, ganz kleine Nadeln. Löschung schief, im Mittel 31°. Sublimat löst gerade. $Fp = 250^\circ$ bis 251°.
m-Oxybenzaldehyd $Fp = 104^\circ$.	Sphärokristalle, sehr kleine Nadelchen. Gerade Löschung. $Fp = 254^\circ$ bis 255°.	Kleine Nadelchen. Gerade Löschung. $Fp = 216^\circ$ bis 219°.
p-Oxybenzaldehyd $Fp = 115^\circ$ bis 118°.	Feine Nadeln. Gerade Löschung. $Fp = 287^\circ$ bis 288° (Zersetzung).	Nadeln. Gerade Löschung. Bei 110° bis 125° teilweise flüssig, dann wieder Nadeln. $Fp = 234^\circ$ bis 236,5°.
2,4-Dioxybenzaldehyd $Fp = 133^\circ$ bis 134°.	Gelbe Nadeln. Gerade Löschung. Fp unscharf um 280°, unter Zersetzung, roter Teer.	Kleine, gelbe Nadelchen. Gerade Löschung. $Fp = 269^\circ$ (Zersetzung).

(Fortsetzung)

Tabelle 1.

Aldehyd	Reaktionsprodukte mit wäßrigen 10%igen Lösungen von	
	Isonicotinsäure-Hydrazid (Rimifon)	Nicotinsäure-Hydrazid
Protocatechu- aldehyd (3,4-Dioxybenz- aldehyd) $Fp = 150^\circ$ bis 151° .	Gelbe Prismen. Gerade Löschung. $Fp = 259^\circ$ bis $261,5^\circ$.	Nadeln. Gerade Löschung. Um 135° teilweise flüssig, dann Bildung kurzer Nadeln in Büscheln. $Fp = 234^\circ$ bis 235° (Zer- setzung).
p-Dimethylamino- benzaldehyd $Fp = 72^\circ$ bis 73° .	Nadeln und gelbliche Sechsecke. Gerade Löschung. $Fp = 68^\circ$ bis $70,5^\circ$.	Sechseckige Tafeln, Nadeln. Gerade Löschung. Um 55° teilweise Schmelze, dann wieder fest. $Fp = 69^\circ$ bis 71° .
2-Naphthyl- aldehyd $Fp = 52^\circ$ bis 57° .	Lange Nadeln, mit ge- rader, hier und da schie- fer Löschung (35°). Um 115° teilweise Schmelze, dann alles fest. $Fp = 169^\circ$ bis 170° .	Schöne Nadeln. Gerade Löschung. Um 105° bis 115° teilweise Schmelze, dann fest, in groben Drusen. $Fp = 165^\circ$ bis 166° .
Piperonal $Fp = 36^\circ$.	Ungleiche Blättchen. Gerade Löschung an länglichen Kristallen. Von 50° bis 130° teil- weise Schmelze, woraus grobe, stark lichtbre- chende Prismen kristal- lisieren; diese löschen gerade. $Fp = 224^\circ$ bis 225° .	Derbe, kurze, rechteckige Pris- men. Gerade Löschung. Von 105° bis 150° teilweise Schmelze, aus welcher neue Prismen in Büscheln wachsen. $Fp = 192^\circ$ bis 193° .
Vanillin $Fp = 80^\circ$ bis 81° .	Gelbliche, schief- geschnittene Prismen und Nadeln. Gerade Löschung. $Fp = 222,5^\circ$ bis 224° .	Gelbe Kristalle, aus Äthanol in Tafeln und Rhomben, aus verdünntem Äthanol in Nadel- büscheln kristallisierend. Gerade Löschung. Zwischen 102° und 108° ölig, aus der Halbschmelze kristal- lisieren bei 150° derbe Prismen. $Fp = 203^\circ$ bis 205° .
Äthyl-Vanillin $Fp = 73^\circ$ bis 75° .	Agglomerat feiner Fä- den, das bei 255° ein Sublimat derber, schief- geschnittener Prismen gibt. Gerade Löschung. $Fp = 245^\circ$.	Feine Nadelbüschel. Gerade Löschung. Zwischen 50° und 120° teil- weise Schmelze, aus der Sphä- rokristalle wachsen. $Fp = 180^\circ$ bis 181° .
Formaldehyd (offizinelle Lösung).	Erst nach langem Ste- hen Sphärokristalle.	Erst nach langem Stehen Prismen. Gerade Löschung. $Fp = 143^\circ$ bis 146° .
Salicylaldehyd (flüssig).	Nadeln. Schiefe Löschung (47°). $Fp = 237^\circ$ bis 239° .	Gelbe, feine Nadelbüschel. Gerade Löschung. Bei 90° teilweise geschmolzen, worauf Drusen entstehen. $Fp = 179^\circ$ bis $179,5^\circ$.
Zimtaldehyd (flüssig).	Nadeln und Prismen. Schiefe Löschung, meist 51° oder 47° . $Fp = 192^\circ$ bis 193° .	Breite Blättchen, Nadeln. Gerade Löschung an länglichen Kristallen. Bei 85° bis 95° teil- weise Schmelze, daraus Sphä- rokristalle. $Fp = 157^\circ$ bis $157,5^\circ$.

Nachdem ich erkannt hatte, daß sich mit 1 Tropfen „Bi I 1.5“ die Nicotinsäure sehr leicht mikrochemisch nachweisen läßt, beschäftigte mich natürlich sofort die Frage, ob die Nicotinsäure in dem bekannten Medikament „Coramin“ nicht auch nachgewiesen werden könne. Alle Versuche schlugen zuerst fehl. Erst als ich im Chloroform ein geeignetes Waschmittel gefunden hatte, um das beim Abbau gebildete salzsaure

Diäthylamin zu entfernen, gelang der mikrochemische Nachweis mit „Bi I 1,5“. Dieser wurde seinerzeit veröffentlicht², wobei noch 15 Tropfen der üblichen 25%igen Lösung benötigt wurden. Heute gelingt dieser Nachweis mit *einem einzigen Tropfen Coraminlösung*.

Das Prinzip meiner Nachweismethode ist einfach: Die wäßrige, saure Nicäthamidlösung (Phantasiename: Coramin) wird alkalisch gemacht. Das Nicotinsäure-Diäthylamid scheidet sich ölig ab. Es wird durch Erhitzen mit konz. Salzsäure bis auf 210° in salzsaures Diäthylamin und in das Nicotinsäure-Chlorhydrat gespalten. Ersteres wird mit Chloroform gewaschen, aus dem Rückstand gewinnt man ein Mikrosublimat von Nicotinsäure, das die typischen Rhomben mit „Bi I 1,5“ entstehen läßt. Auch entsteht genügend Sublimat, um die Nicotinsäure auf ihren Schmelzpunkt zu prüfen. Da hierbei die Nicotinsäure sehr leicht verdunstet bevor sie schmilzt, haben wir früher die Substanz im beidseitig zugeschmolzenen Rohr untersucht. Von einem einzigen Tropfen Coraminlösung erhält man aber so wenig gereinigtes Sublimat, daß der *Fp* auf dem Deckglas selbst bestimmt werden muß. Wir behelfen uns, indem wir das runde Deckglas mit einem Stück Heftpflaster auf den Objektträger kleben, Sublimat nach innen. In das Heftpflaster wird mit einem Korkbohrer vorher ein Beobachtungsloch geschnitten. Auf diese Weise gelang es, die Nicotinsäure mit ihrem *Fp* = 228° zu charakterisieren. Der „Abbau“ ist aus unserem Schema leicht zu übersehen:

1 gtt Coramin + 2 gtt KOH sol. + 1 ml Äther. Schütteln. Schichten trennen. Mit Mikropipette ätherische Lösung wegnehmen. Im Eder-Mikrosublimierapparat auf „T. B. Block“ vom Äther befreien. 5 gtt konz. HCl dazu. Erhitzen bis Blocktemperatur 210°. Erkalten. Mehrere Male Rückstand mit Chloroform behandeln. Mikrosublimat auf runde Deckgläser bei Blocktemperatur bis ca. 225°. Sublimat nochmals mit Chloroform abwaschen. Nachweis durch *Fp*-Bestimmung, mit weiterem Sublimat mit „Bi I 1,5“.

Längere Zeit beschäftigte ich mich mit der Frage des *Brechungs-exponenten*. Da im Apothekenlaboratorium Naturprodukte zu prüfen sind, genügt die Bestimmung des Index auf 3 Dezimalstellen vollauf. Bei den in Frage kommenden Naturstoffen, wie ätherischen und fetten Ölen, Glycerin u. a. m., müssen so weite Extremwerte des Index zugelassen werden, daß es gar keinen Sinn hätte, diesen bis auf 4 oder gar bis auf 5 Dezimalen zu bestimmen. Die kostspieligen, optischen Bestimmungsapparate kommen daher für das Pharmazielaboratorium von vornherein gar nicht in Frage.

Zuerst versuchte ich das Problem mit *Koflers Glaspulver-Skala* zu lösen. Ich setze die Methode als bekannt voraus. Man sucht die Temperatur, bei der die Richtung der Wanderung der *Beckeschen Linie* umkehrt und hat dann, auf 4 Dezimalen genau den Brechungsexponenten. Da wir nur auf 3 Dezimalen genaue Werte brauchen, genügt es demnach, *ohne Heizblock* einfach diejenigen Glaspulversorten zu finden, *zwischen* denen die Umkehrung der Wanderrichtung der *Beckeschen Linie* stattfindet⁴. Man kann mit *Koflers Pulverserie ohne Heizquelle* entscheiden, ob ein ätherisches Öl den Anforderungen des Arzneibuches genügt oder nicht. Auch die Temperatur der zu prüfenden Substanz spielt bekanntlich eine Rolle. Nach älteren Untersuchungen von *Brühl*, die 1952 nachgeprüft und als richtig befunden wurden⁷, beträgt der mittlere Koeffizient für alle Lichtarten 0,00045 Einheiten pro 1° Temperaturdifferenz. Wir haben mit *Koflers Glaspulvern* denselben Wert gefunden, indem wir die Glaspulver auf unserm „T. B. Block“ verwendeten, einmal mit Glycerin, das andere Mal mit konz. Nicäthamid. Bei beiden Kurven ist die Temperatur auf der Abszisse, der Index auf der Ordinate aufgetragen⁴. Aus den entstehenden Kurven (Umkehr der Wanderrichtung der *Beckeschen Linie*) ergibt sich durch Berechnung, daß die *Brühlsche Zahl* genau stimmt. Es zeigte sich aber auch, daß die Temperatur keinen wesentlichen Einfluß hat, wenn nur auf 3 Dezimalen genau bestimmt werden kann, wie das bei Naturprodukten der Fall ist.

Gerade in dem Augenblick, wo die Redaktionskommissionen der Arzneibücher verschiedenster Länder sich entscheiden müssen, auf welche Weise sie mit dem Problem „Brechungsexponent“ fertig werden wollen, brachte die Firma E. Leitz GmbH. in Wetzlar das *Mikrorefraktometer nach Jelley* heraus. Der Strahlengang des genial-einfachen Gerätes ist aus der von der Firma herausgegebenen Zeichnung ohne Mühe verständ-

lich⁴. Ich selber benütze das Gerät seit zwei Jahren zur Prüfung der Wareneingänge und könnte es nicht mehr missen. Der Index ergibt sich sicher auf 2 Dezimalen, durch Schätzung auf drei. Immerhin sähe ich eine mögliche Verbesserung des Gerätes, wenn die eine Hälfte der Skala noch weiter unterteilt würde. Wer aber einigermaßen „Augenmaß“ besitzt, bestimmt die dritte Dezimale mühelos. Mit diesem Apparat prüften wir u. a. Glycerin verschiedenster Konzentration, wobei auf einer gewöhnlichen Analysenwaage gewogen wurde, und zwar verschiedene Tropfenmengen Glycerin und Wasser. Die resultierende Kurve ergab⁴, daß sich die von uns bestimmten Zahlen (mit + bezeichnet) gut einfügen in Angaben, die Kadmer⁸ gemacht hatte (mit 0 bezeichnet).

Analog prüfte ich das käufliche 100%ige Nicäthamid und dessen Verdünnungen und trug die Resultate zu einer Kurve zusammen, die nun umgekehrt als *Meßkurve*⁴ dienen kann, um mit einem ganz kleinen Tropfen *quantitativ* zu bestimmen, ob das Präparat, das so weitverbreitet ist, wirklich auch die verlangte Konzentration von 25% besitze.

Es sollte aus diesen Beispielen ersichtlich sein, mit welchem praktischen Wert sich kommende Arzneibücher der mikrochemischen und mikrophysikalischen Methoden bedienen könnten.

Meinem verehrten Lehrer und Freund, Herrn Prof. L. Rosenthaler, Bern, möchte ich auch an dieser Stelle für seine wertvollen Ratschläge danken.

Zusammenfassung.

Wirklich neuzeitliche Arzneibücher sollten in vermehrtem Maße mikrochemische und mikrophysikalische Methoden verwenden, sei es zur Identifizierung von Arzneistoffen, sei es selbst zu quantitativen Prüfungen.

Am Beispiel medizinisch viel verwendeter Derivate des Pyridins wird gezeigt, daß mit geringsten Mengen abgeschabter Tablettenmassen mit 1 Tröpfchen „Bi I 1.5 Lüdy“, einem modifizierten Dragendorff-Reagens mühelos unterschieden werden können:

1. Nicotylamid.
2. Nicotinsäure.
3. Isonicotinsäure.
4. Isonicotinsäure-Hydrazid (Rimifon).
5. Nicotinsäure-Hydrazid (als Verunreinigung oder Verwechslung von 4.).

Da Rimifon mit „Bi I 1.5 Lüdy“ eine nicht ganz befriedigende Fällungsreaktion gibt, die immerhin zur Differenzierung genügen würde, wurde versucht, die Reaktion von Aldehyden und Ketonen mit der endständigen NH₂-Gruppe zu verwenden. Es resultierten Reaktionsprodukte einer ganzen Reihe Aldehyde, von denen praktisch nur Benzaldehyd und Vanillin zur Verwendung vorgeschlagen werden, da beide Substanzen unterscheidbare Reaktionsprodukte liefern und zugleich in jeder Apotheke zur Verfügung stehen.

Die Beschäftigung mit dem Problem „Brechungsexponent“ führte wiederum zur Arzneimittelgruppe „Derivate des Pyridins“ zurück, indem eine *Meßkurve* zusammengestellt wurde, mit deren Hilfe durch Bestimmung des Index auf nur 3 Dezimalstellen genau eine quantitative Bestimmung des viel verwendeten Arzneimittels Nicäthamidum (Coramin) möglich ist.

Summary.

Derivatives of pyridine that are widely used in medicine were employed to show that the following can be easily distinguished with one drop of „Bi I 1.5 Lüdy“, which is a modified Dragendorff reagent. Very slight amounts shaved from tablets suffice. The materials distinguished were: nicotylamide, nicotinic acid, isonicotinic acid, isonicotinic acid hydrazide (rimiform), nicotinic acid hydrazide (as contaminant of rimiform).

Since rimiform does not give a completely satisfactory precipitation reaction with the reagent, at any rate not good enough for differentiation, an attempt was made to apply the reaction of aldehydes and ketones with the terminal NH₂ group. Reaction products were obtained with a whole series of aldehydes. Of these only benzaldehyde and vanillin are suggested since both yield reaction products that are distinguishable and also because both can be obtained in any pharmacy.

Study of the problem of "computation exponent" led once more to the medicinals of the "derivatives of pyridine" type because one calibration curve was assembled and with its help, through determination of the index to only three places, it was possible to arrive at an accurate quantitative determination of the widely used remedy nicaethamidin (coramin).

Literatur.

- ¹ F. Lüdy-Tenger, Mikrochem. **36/37**, 882 (1951).
- ² F. Lüdy-Tenger, Mikrochem. **38**, 460 (1951).
- ³ F. Lüdy-Tenger, Pharmaceut. Acta Helv. **28**, 22 (1953).
- ⁴ F. Lüdy-Tenger, Pharmaceut. Acta Helv. **29**, 127 (1954).
- ⁵ F. Lüdy-Tenger, Pharmaceut. Acta Helv. **22**, 476 (1947).
- ⁶ H. Meyer und J. Mally, Mh. Chem. **33**, 401 (1912).
- ⁷ Roth, Eisenlohr und Löwe, Refraktometrisches Hilfsbuch. Berlin: Gruyter, 1952. S. 95 ff.
- ⁸ Kadmer, Fettöle, Wachse, Harze und ihre Verarbeitungsprodukte. Wolfenbüttel: 1948. Zitiert nach K. Opfer-Schaum, Mikroanalyse organischer Arzneimittel und Gifte. Aulendorf i. Württ.: Cantor. S. 46.



Abb. 1. Sublimat von Nicotinsäure-Hydrazid.
Blocktemperatur 160° bis 155°.
Flüchtige Blättchen, oft Nadeln.
Lösung gerade.

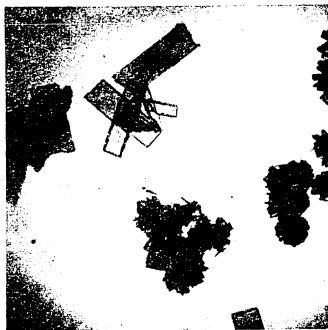


Abb. 2. Nicotinsäure-Hydrazid mit „Bi I 1,5“.
Rotleuchtende, derbe, rechtwinklige kurze Prismen.
Lösung gerade.



Abb. 3. Benzalisonicotinsäure-Hydrazid.
Fp = 191° bis 191,5° Nadeln.
Lösung gerade.

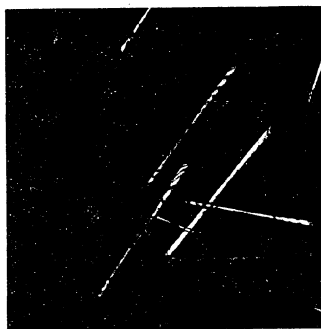


Abb. 4. 3-Methoxy-4-oxybenzalisonicotinsäure-Hydrazid.
Fp = 222,5° bis 224°, gelbliche, schiefgeschnittene Nadeln und Prismen.
Lösung gerade.



Abb. 5. Benzalnicotinsäure-Hydrazid.
 $F_p = 146,5^\circ$ bis 148° , farblose Nadeln und Prismen.
 Lösung gerade.

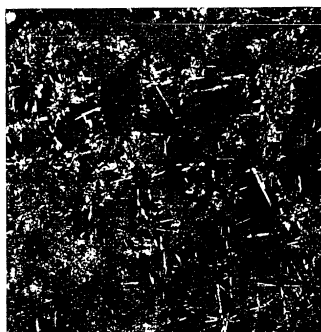
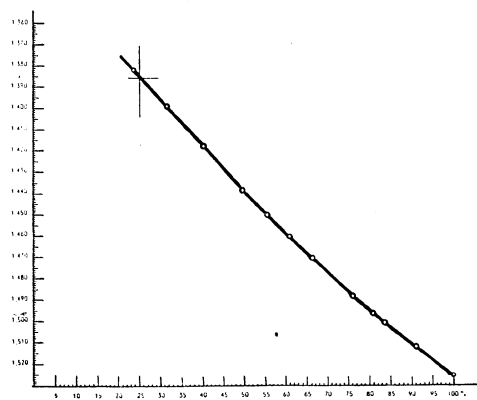


Abb. 6. 3-Methoxy-4-oxybenzalnicotinsäure-
 Hydrazid.
 $F_p = 203^\circ$ bis 205° ,
 Gelbliche Nadelbüschel.
 Lösung gerade.

Beziehungen zwischen Brechungsindex und Konzentration von
 NICAETHAMIDUM



Mikrochimica Acta (Tagung).
O/2.

Zeilenanzahl: 220.

Aus dem Laboratorium der Allgemeinen Elektrizitätsgesellschaft AEG,
Belecke / Möhne.

Mikromethoden in der Halbleiterforschung.

Von

Franz A. Pohl.

Mit 2 Abbildungen.

(Eingelangt am 16. März 1955.)

Wenn man Angaben über die Leitfähigkeit von Halbleitersubstanzen in der Literatur vergleicht, so findet man bei gewissen Stoffen ganz erhebliche Differenzen zwischen Meßwerten verschiedener Autoren. Die Unterschiede betragen zuweilen ein oder mehrere Zehnerpotenzen, wie zum Beispiel beim technisch so bedeutenden Selen.

Die Ursachen dieser Diskrepanzen liegen zum größten Teil in der unterschiedlichen Reinheit der untersuchten Substanzen, das heißt, im Vorhandensein von Verunreinigungen, die bereits in sehr geringen Mengen elektrisch wirksam sind, indem sie das Valenzelektronensystem der kristallisierten Substanz stören. Dabei kann der Einfluß verschiedener Verunreinigungen verschieden sein, zum Beispiel in einem Falle die Leitfähigkeit erhöhen, im anderen herabsetzen.

Ein ideales Beispiel zur Veranschaulichung dieser elektronischen Effekte ist das Germanium.

Germanium kristallisiert im Diamantgitter. Jedes Germaniumatom ist im Kristallgitter tetraedrisch von vier anderen Germaniumatomen umgeben, wobei die Valenzelektronen zu Elektronenpaarbindungen zusammentreten. In dieser idealen Form ist Germanium Nichtleiter. Bereits bei geringer Energiezufuhr kommt jedoch eine Stromleitung dadurch zustande, daß von einem Bindungselektronenpaar ein Elektron abdissoziiert. Dieses Elektron kann sich im Gitter frei bewegen, bis es von einer in gleicher Weise entstandenen positiven Elektronendefektstelle eingefangen wird.

Nehmen wir an, daß bei unserem Beispiel dieser Strom der Elektronen von links nach rechts erfolgt, so wandern die durch Abdissoziation eines Elektrons entstandenen positiven Defektstellen im entgegengesetzten Sinne von rechts nach links.

Im Gegensatz zur metallischen Leitfähigkeit nimmt die oben beschriebene Eigenleitung von Halbleitern mit zunehmender Temperatur stark zu, da die Dissoziationsvorgänge immer häufiger auftreten und immer mehr freie bewegliche Elektronen, bzw. eine zunehmende Zahl von Defektstellen vorhanden sind. Diese Art der Leitfähigkeit würde bei einem Germanium auftreten, das keinerlei Fremdatome enthält.

Praktisch sind jedoch auch im reinsten Germanium noch etwa 10⁻⁷% Verunreinigungen enthalten. Daher tritt neben dieser Eigenleitung eine sogenannte Störleitung durch die von Verunreinigungen gebildeten Fremdstörstellen auf, die bei Normaltemperatur die Eigenleitung mehr oder weniger stark überlagert.

Wird zum Beispiel im Kristallgitter ein Ge-Atom durch ein Atom der 5b-Gruppe, etwa As ersetzt, so ordnen sich von den 5 Valenzelektronen des As-Atoms vier in die Valenzbindung des Germaniumgitters ein. Das fünfte Valenzelektron ist nur locker gebunden und wird leicht durch thermische Anregung in das Leitungsband abgespalten. Durch solche Fremdstörstellen wird Germanium zum Überschuß- bzw. n-Leiter. Wird ein Germaniumatom durch ein Element der 3b-Gruppe, etwa Gallium ersetzt, so ist an dieser Stelle im Gitter ein Elektron weniger

vorhanden, als bei Aufrechterhaltung des normalen Valenzelektronensystems des Germaniums benötigt würde. Die Lücke kann durch ein Elektron aus dem Valenzband des Germaniums aufgefüllt werden, wobei eine Elektronendefektstelle und eine 3b-Atomstörstelle mit einfach negativer Ladung entstehen. Das Germanium wird zum Defektleiter.

Da die Zahl dieser freien Elektronen bzw. Defektstellen bei Zimmertemperatur praktisch nur von der Konzentration der eingebauten Fremdatome abhängig ist, sind Leitfähigkeitsangaben von Halbleitern nur sinnvoll, wenn genaue Reinheitsangaben gemacht werden können. Hierzu sind jedoch Mikromethoden und spurenanalytische Methoden erforderlich, die bis heute nur in sehr geringer Zahl in der Literatur enthalten sind.

Bei metallischen Spuren bereitet die Anreicherung und photometrische, polarographische oder spektrographische Bestimmung keine allzu großen Schwierigkeiten. Größere Schwierigkeiten bietet die Bestimmung von Nichtmetallspuren.

Infolge des Fehlens geeigneter Bestimmungsmethoden und der damit verbundenen mangelnden Kenntnis der Reinheit ist trotz zahlreicher Untersuchungen das Leitfähigkeitsverhalten des Selen in seinen Einzelheiten noch keineswegs geklärt. Man kann sich daher beim Selen noch keine so anschaulichen Vorstellungen über die Stromleitung machen, wie beim Germanium oder Silicium.

Unter anderem ist bekannt, daß Halogene die Leitfähigkeit des Selen vergrößern, während gewisse Metalle die Leitfähigkeit möglicherweise durch Binden von Halogenstörstellen herabsetzen. Man muß beim Selen jedenfalls vermuten, daß die bisher gemessenen Leitfähigkeitswerte dem Zusammenwirken mehrerer Störstellenarten zuzuschreiben sind.

Um derartige Effekte näher zu untersuchen, sind wir bemüht, Mikromethoden auszuarbeiten, die es gestatten, Verunreinigungen in Halbleitern in den interessierenden Konzentrationen quantitativ zu bestimmen.

Im folgenden sei eine Methode zur Bestimmung von sehr geringen Mengen Chlorid und Bromid nebeneinander im Selen kurz geschildert.

Die Halogenbestimmung im Selen.

Die elektrisch wirksamen Konzentrationen der genannten Halogene im Selen liegen zwischen 10^{-2} und $10^{-4}\%$. Es sind demnach bei Einwägen von 100 bis 500 mg Selen Mikrogramm-Mengen an Halogen zu bestimmen.

Das Prinzip der Mikromethode umfaßt folgende Teiloperationen:

1. Lösen der Selenprobe in Salpetersäure in Gegenwart eines großen Überschusses von Silbernitrat.
2. Reduzieren der von der Lösung getrennten Silberhalogenide mit Hydrazin in natronalkalischer Lösung.
3. Potentiometrische Mikrotitration des in Salpetersäure gelösten Silbers in einem maximalen Volumen von 0,5 ml mit 0,02-n Rhodanidlösung.
4. Photometrische Brombestimmung als Eosin im Filtrat nach der Silberreduktion.

Die zur Bestimmung angewendeten chemischen Reaktionen sind seit langem in der Analyse bekannt. Dennoch waren zur Erzielung exakter und reproduzierbarer Analysenergebnisse bei den vorliegenden geringen Mengen zahlreiche Bedingungen zu untersuchen, auf die in der Literatur keine Hinweise zu finden waren.

Im einzelnen ist zu den Operationen zu bemerken: Das Lösen der Probe erfolgt in Spitzröhrchen auf dem Mikrowasserbad mit 2 bis 4 ml konz. halogenfreier Salpetersäure. Verluste durch Spritzen sowie das Verdampfen der Säure verhindert man durch Aufsetzen von Kühlerkugeln. Die Salpetersäure destilliert man in einer Quarzapparatur über Silbernitrat. Da es sich zeigte, daß Lichteinwirkung beim Lösevorgang durch Silberreduktion Pluswerte von 10 bis 50% bewirkt, führen wir diese Operation in einem schwarzen Kasten aus Kunststoff (Troidur) durch.

Die Trennung der Silberhalogenide von der Lösung erfolgt durch Zentrifugieren und Absaugen mit Saugglocke und Kapillare. Filterstäbchen sind hierzu nicht zweckmäßig, da der am Filterstäbchen haftende Niederschlag schlecht weiterbehandelt werden kann.

Die potentiometrische Mikrotitration wird in einem maximalen Volumen von 0,5 ml vorgenommen, wobei ein 1 mm starker Silberdraht als Indikatorelektrode dient. Als Bezugslektrode verwenden wir eine Kalomelektrode mit gesättigter Kaliumnitratlösung, die mit einer Kapillare mit der Probelösung im Spitzröhrchen in Verbindung steht. Die Mikrobürette nach *Gorbach* taucht in die Lösung ein, die magnetisch gerührt wird. Die Titration erfolgt mit 0,02-n oder 0,01-n Rhodanidlösung in Schritten von 5 μ l. Auf diese Weise gelingt es, Silbermengen bis zu 15 μ g herab zu titrieren. Als Anzeigegerät stand uns ein „Pehavi“ von Hartmann und Braun zur Verfügung.

Bei Silbermengen unter 15 μ g sind die Bedingungen einer mikropotentiometrischen Titration nicht mehr hinreichend erfüllbar. Wir haben deshalb für Mengen von 3 bis 15 μ g Silber die photometrische Bestimmung mit p-Dimethylaminobenzylidenrhodanin angewendet, wobei wir die Messung der Extinktion der kolloidalen Silberverbindung in 50%iger alkoholischen Lösung bei 550 m μ vornehmen (Abb. 1).

Das Prinzip der photometrischen Bestimmung von Bromid besteht in der Oxydation der Bromidionen mit Chloramin T zu Brom und Bromierung von Fluorescein zu Tetrabromfluorescein, dessen Extinktion gemessen wird (Abb. 2).

Zunächst wurden die Absorptionskurven von Fluorescein und Eosin gemessen. Später zeigte es sich, daß bei Anwesenheit von Chloramin aus dem Fluorescein ein chloriertes Produkt entsteht, dessen Absorptionskurve zwischen jener des Fluoresceins und der des Eosins liegt.

Die Bildung des Eosins ist von einer Reihe von Bedingungen abhängig, bei denen bereits geringe Änderungen zu deutlichen Extinktionsabweichungen führen können (Abb. 8).

Besonders der pH-Wert der Lösung ist während der Bromierung von sehr ausgeprägtem Einfluß. Während bei pH-Werten von etwa 3 bis 4 die Oxydation des Bromions durch Chloramin außerordentlich rasch erfolgt und das überschüssige freie Chlor das Fluorescein angreift, verläuft die Oxydation über pH 6 nur langsam. Bei einer Einwirkungszeit von 4 Minuten ist bei den von uns angewendeten Reagenzmengen pH 5,5 am günstigsten (Abb. 9).

Der Einfluß der Chloraminmenge ist ebenfalls bedeutend, wenn auch nicht in dem Maße wie der des pH-Wertes. Das Optimum liegt bei unseren Reaktionsbedingungen bei 0,01% im Gesamtvolumen (Abb. 10).

Zur Ermittlung der optimalen Einwirkungsdauer des Chloramins untersuchten wir bei Konstanzhaltung aller übrigen Bedingungen den Einfluß der Zeit sowohl auf die Bromierung als auch auf die Chlorierung des Fluoresceins. Die bromhaltige Lösung erreicht nach etwa 2½ Minuten ein Extinktionsmaximum, das sich bis 5 Minuten Einwirkungszeit kaum verändert, um bei längerer Einwirkung langsam abzunehmen. Die günstigste Reaktionsdauer beträgt demnach 4 Minuten. Die Extinktion des chlorierten Fluoresceins erreicht bereits nach einer halben Minute der Einwirkung ein Maximum und nimmt dann kontinuierlich ab.

Die jodometrische Titration des mit Natriumhypochloritlösung zu Bromat oxydierten Bromides nach *Kolthoff* haben wir ebenfalls untersucht und für die vorliegenden Mengen dimensioniert. Mit dieser Methode ist die mikromaßanalytische Bestimmung von 1 μ g Bromid aufwärts möglich. Der spezifischeren photometrischen Bestimmung ist jedoch der Vorzug zu geben, wenn größere Mengen an Chlorid neben Bromidsuren vorhanden sind. In diesem Falle treten Plusfehler durch Chlorat auf, das zwar nur sehr langsam, aber doch bereits merkbar Jod freisetzt.

Mit den beschriebenen Methoden ist es möglich, im Selen Halogenmengen von 2 μ g aufwärts mit Fehlern innerhalb von 5% zu bestimmen. Falls erforderlich, kann die Empfindlichkeit der Methode durch Steigerung der Seleninwaage bis 2 g erhöht werden. Zum Lösen dieser Selenmenge im Spitzröhrchen sind 5 ml Salpetersäure erforderlich, die man in zwei Portionen zusetzt.

Mit Hilfe derartiger Mikromethoden zur Mikro- und Spurenanalyse wird es möglich, die Reinheit außerordentlich hochgereinigter Substanzen weitgehend zu definieren bzw. den tatsächlichen Gehalt an bestimmten

gewollten Zusätzen zu kontrollieren. In Verbindung mit physikalischen Untersuchungsmethoden zur Kennzeichnung der Stoffeigenschaften und mit Messungen der elektrischen Eigenschaften so definierter Stoffe kann Schritt für Schritt der Weg zur Klärung des Leitfähigkeitsmechanismus von Halbleitersubstanzen beschriftet werden. Bei gewissen Stoffen stehen dieser Klärung allerdings noch erhebliche Schwierigkeiten entgegen.

Zusammenfassung.

Die elektrische Leitfähigkeit von Halbleitersubstanzen ist bei Normaltemperatur vorwiegend durch den Gehalt an Fremdstörstellen im Kristallgitter der Substanz bedingt. Es sind daher Leitfähigkeitsangaben nur sinnvoll, wenn genaue Reinheitsangaben gemacht werden können. Die hierzu erforderlichen Mikro- und spurenanalytischen Methoden sind bis heute nur in geringem Maße vorhanden. Besonders die Bestimmung von nichtmetallischen Verunreinigungen oder Zusätzen bereitet Schwierigkeiten.

Die Leitfähigkeit des Selen wird durch Halogene stark beeinflusst. Es wird eine Mikromethode zur Bestimmung von Chlorid und Bromid nebeneinander im Selen beschrieben. Die Selenprobe wird in Gegenwart eines großen Überschusses von Silbernitrat in halogenfreier Salpetersäure gelöst. Die gebildeten Silberhalogenide werden mit Hydrazin in natronalkalischer Lösung reduziert. Das in Salpetersäure gelöste Silber wird potentiometrisch in einem max. Volumen von 0,5 ml mit der Membranburette nach *Gorbach* mit 0,02-n Rhodanidlösung titriert. Brom wird photometrisch als Tetrabromfluorescein bestimmt. Aus den beiden Ergebnissen wird der Chloridgehalt errechnet. Mit dieser Methode können Halogene bis zu 0,0001% bestimmt werden.

Summary.

The electrical conductivity of semi-conductors is conditioned (at normal temperature) predominantly by the content of foreign interfering substances in the crystal lattice of the material. Accordingly, conductivity data have meaning only when exact statements can be made regarding the purity. The micro- and trace analytical methods required for this are now available to only a very slight extent. The determination of nonmetallic impurities or additions presents difficulties in particular.

The conductivity of selenium is strongly affected by halogens. A description is given of a micromethod for the determination of chloride and bromide. The sample of selenium is dissolved in halogen-free nitric acid in the presence of a large excess of silver nitrate. The resulting silver halides are reduced with hydrazine in caustic soda solution. The silver is dissolved in nitric acid and titrated potentiometrically in a maximum volume of 0.5 ml with 0.02 N thiocyanate solution. A Gorbach membrane burette is used. Bromine is determined photometrically as tetrabromofluorescein. The chloride content is calculated from the two results. As little as 0.0001% halogen can be determined by this method.

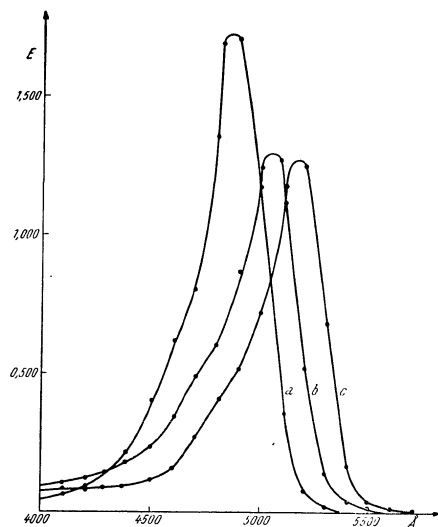


Abb. 1. Absorptionskurven von 0,004%igen Lösungen von *a*) Fluorescein, *b*) chloriertes Fluorescein, *c*) bromiertes Fluorescein, $d = 10$ mm, Spektralphotometer UNICAM Sp 500.

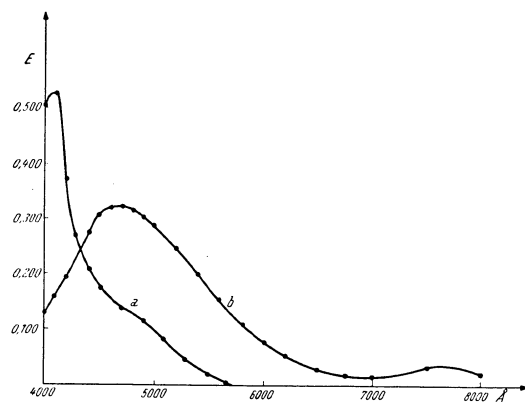


Abb. 2. Absorptionskurven von *a*) p-Dimethylaminobenzylidenrhodanin 0,002%, *b*) Silberkomplex des Reagenzes, $d = 40$ mm, Spektralphotometer UNICAM Sp 500.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/3.

Zeilenanzahl 266

Aus dem I. Chemischen Institut der Universität Wien.

Osmotische Messungen mit Mikromengen hochpolymerer Stoffe.

Von

E. L. Forster und J. W. Breitenbach.

Mit 3 Abbildungen.

(Eingelangt am 15. März 1955.)

Zur Bestimmung von Molgewichten hochpolymerer Stoffe werden heute in der Hauptsache drei Methoden verwendet: die osmotische, Streulichtmessungen und die Bestimmung der Sedimentationsgeschwindigkeit bzw. des Sedimentationsgleichgewichtes mit der Ultrazentrifuge. Unter diesen drei Methoden hat die osmotische den großen Vorteil, daß sie keinen kostspieligen apparativen Aufwand erfordert. Es ist daher verständlich, daß die meisten Molgewichte von Hochpolymeren durch Messung des osmotischen Druckes gewonnen werden.

Um nun auch bei sehr beschränkten Substanzmengen eine osmotische Molgewichtsbestimmung zu ermöglichen, wurden die beiden Mikroosmometer geschaffen, die im folgenden kurz geschildert werden. Man kann mit ihnen mit weniger als 10 mg Substanz osmotische Drucke messen, wobei als besonders großer Vorteil beider Osmometer noch hinzukommt, daß die Substanz nach der Messung fast quantitativ zurückgewonnen werden kann.

Das Mikroosmometer 1 läßt sich aus jedem Injektionsosmometer, dessen Bauart und Verwendung in zwei Veröffentlichungen¹ beschrieben wurden, leicht herstellen. Zu diesem Zweck ist lediglich ein Verdrängungskörper aus Metall oder Glas in die Osmometerzelle zwischen die beiden Membranen einzulegen. Der Verdrängungskörper ist eine Scheibe, die in der Mitte in Richtung eines Durchmessers durchbohrt ist, so daß man durch diese Bohrung beim Füllen oder Entleeren des Osmometers eine Injektionsnadel einführen kann. Um eine Durchmischung des Zellinhaltes zu bewirken und Konzentrationsunterschiede im Inneren der Osmometerzelle zu verhindern, ist die Einlegescheibe zum größten Teil der Länge nach durchgeschnitten. Aus der Abb. 1 ist dies deutlich zu ersehen.

Die Messung osmotischer Drucke mit diesem Gerät ist sehr einfach: Zunächst legt man in die kreisförmige Ausnehmung der Metallplatte (Abb. 1) eine Filterpapierscheibe, auf diese dann eine geeignete Membran und setzt dann die Osmometerzelle darauf. In die Osmometerzelle legt man nun das Verdrängungsscheibchen und sichert es gegen ein Verschieben während des weiteren Zusammenbauens des Osmometers, indem man eine Injektionsnadel durch die Kapillare in die Bohrung der Scheibe einführt. Auf den Glaszylinder kommt die zweite Membran, darauf wieder eine Filterpapierscheibe und schließlich die andere Metallplatte, die mit vier Zylinderkopfschrauben fest verschraubt wird. Die beiden Filterpapierscheiben dienen zur Schonung der Membranen und verlängern deren Haltbarkeit. Wenn man nicht große Übung im Zusammenbauen eines Osmometers hat, soll sich die Osmometerzelle während des Zusammensetzens in einer Schale unter Wasser befinden, da die Membranen durch Austrocknen schadhafte werden. Falls man osmotische Drucke in nichtwäßrigen Lösungen messen will, muß das Wasser aus der Membran durch das betreffende Lösungsmittel verdrängt werden; wenn eine direkte Verdrängung des Wassers nicht möglich ist, weil das Lösungsmittel mit Wasser nicht mischbar ist, muß man das Wasser erst mit einer

Flüssigkeit verdrängen, die sowohl mit Wasser als auch dem betreffenden Lösungsmittel mischbar ist, ehe man die Osmometer in dieses bringt. Die Verdrängung erfolgt immer durch Einbringen des fertig zusammengestellten Osmometers in die betreffende Flüssigkeit und kann durch mehrmaliges Wechseln, Abspülen oder die Verwendung von Gemischen beschleunigt werden. Es genügt beispielsweise, die Osmometer unmittelbar nach dem Einspannen der Membranen in Methanol und dann nach einem Tag in ein Lösungsmittel, wie Benzol oder Toluol, zu bringen. Nach einem weiteren Tag kann man dann in diesem Lösungsmittel die osmotischen Messungen beginnen. Um einen Eindruck von der Durchlässigkeit und damit der Brauchbarkeit der verwendeten Membranen zu gewinnen, ist es vorteilhaft, vor einer größeren Anzahl osmotischer Messungen eine Permeabilitätsmessung auszuführen. Dazu wird das Osmometer mit dem reinen Lösungsmittel gefüllt und in ein Gefäß mit der gleichen Flüssigkeit eingesetzt. Nach dem Temperatúrausgleich wird — je nach der Durchlässigkeit der Membran — in Abständen von einigen Minuten oder einer Stunde der Stand des Meniskus in der Kapillare abgelesen. Aus diesen Messungen wird die Permeabilitätszahl nach der Beziehung

$$P = \frac{f}{F} \frac{\ln h_0/h_t}{t}$$

berechnet. In dieser Formel bedeuten: f den Kapillarquerschnitt, F die wirksame Membranfläche, h_0 und h_t die Steighöhen zu Beginn des Versuches bzw. zur Zeit t . Die P -Werte für neue Ultracellafilter „Fein“ liegen in Benzol bei rund $10^{-3} h^{-1}$ und sind für Ultracellafilter „Feinst“ 20mal kleiner. Unverhältnismäßig große Durchlässigkeit läßt auf undichte Stellen im Osmometer schließen; bei zu geringer Durchlässigkeit sind die Membranen wegen der langen Einstelldauer ebenfalls unverwendbar.

Arbeitet man bei Zimmertemperatur oder wenig darüber, so kann man mit einer Osmometermembran monatelang messen, ehe ihre Durchlässigkeit so sehr absinkt, daß man sie durch eine neue ersetzen muß. Messungen bei höherer Temperatur (etwa 70° C) erfordern ein häufigeres Wechseln der Membranen.

Für eine Molgewichtsbestimmung mit diesem Osmometer genügen etwa 10 mg Substanz, die in ungefähr 2 ml zu lösen sind. Die Konzentration der Lösung richtet sich nach dem Molekulargewicht des hochpolymeren Stoffes: je höher dieses ist, desto konzentriertere Lösungen müssen verwendet werden. Vor Beginn der osmotischen Messung wird die Zelle zwei- oder dreimal mit der zu messenden Lösung ausgespült. Das Füllen und Entleeren geschieht unmittelbar durch die Meßkapillare mit Hilfe einer Injektionsspritze. Die Spüllösung kann zur weiteren Untersuchung des hochpolymeren Stoffes verwendet werden, wenn das Osmometer vor dem Füllen nur reines Lösungsmittel enthalten hat. Auch nach Beendigung der Messung kann man die Lösung aus der Osmometerzelle mit der Injektionsspritze entfernen, so daß man durch Messung kaum an Substanz verliert.

Beim endgültigen Füllen der Zelle wird, wenn möglich, die zu erwartende Steighöhe ungefähr eingestellt, was mit der Injektionsspritze sehr bequem gelingt, da man leicht Lösung aus der Kapillare entnehmen oder zusetzen kann. Dadurch wird die Zeit bis zum Erreichen des Gleichgewichtes wesentlich abgekürzt. Die Durchsichtigkeit der gläsernen Osmometerzelle erlaubt es, eventuell beim Füllen eingeschlossene Luftbläschen festzustellen, wobei man besonders auf die untere Öffnung der Bohrung in der Einlegescheibe achten muß. Luftblasen müssen selbstverständlich entfernt werden, was mit der Injektionsnadel leicht möglich ist.

Da man das Entleeren, Spülen und Füllen in einem Gefäß vornehmen kann, das sich während dieser Operationen schon im Thermostaten befindet, und man auch die Lösung durch Einhängen in den Thermostaten auf dessen Temperatur bringen kann, ist schon nach 1 bis 2 Minuten die Temperaturkonstanz im Osmometer erreicht und die erste Ablesung wird — am besten mit einem Kathetometer — ausgeführt.

Die Höhe des Kapillarmeniskus unmittelbar nach dem Füllen ist für

die spätere Berechnung der Konzentrationskorrektur von Bedeutung. Die Vergleichskapillare mit völlig gleichem Innendurchmesser wie die Meßkapillare macht eine Bestimmung der Kapillarasension überflüssig, sofern man sich vorher vergewissert hat, daß die Oberflächenspannung der Lösung und des reinen Lösungsmittels nicht wesentlich voneinander verschieden sind. Besonders bei wäßrigen Lösungen ist hier Vorsicht geboten.

Nach wenigen Stunden stellt sich das Gleichgewicht ein. Man kann auch die Gleichgewichtseinstellung aus entgegengesetzter Richtung abwarten und die Übereinstimmung der beiden Werte überprüfen. Um eventuelle Diffusion zu bemerken, beobachtet man die Konstanz des Gleichgewichtswertes während einiger Stunden (z. B. über Nacht).

Zur Auswertung der Meßergebnisse muß man die Konzentration der Polymerlösung bei Erreichen des osmotischen Gleichgewichtes kennen. Diese wird von der Konzentration der Ausgangslösung um so stärker verschieden sein, je weiter der Gleichgewichtsstand des Meniskus von seiner Ausgangsstellung unmittelbar nach dem Füllen entfernt ist. Bei genaueren Messungen muß dieser Unterschied berücksichtigt werden. Wenn man bedenkt, daß die Menge des ins Osmometer eingebrachten Polymeren konstant bleibt und sich nur die Flüssigkeitsmenge ändert, ist diese Konzentrationskorrektur bei Kenntnis des Osmometer- und Kapillarvolumens leicht berechenbar. Sie beträgt

$$\Delta c = -\Delta h \cdot c \left(\frac{v_o}{f} + h_E \right).$$

Dabei bedeuten h_E die Kapillarhöhe im Gleichgewicht, Δh den Unterschied der Kapillarhöhen am Ende und unmittelbar nach dem Füllen des Osmometers, v_o das Volumen der Osmometerzelle bis zu einer bestimmten Marke der Kapillare (vermindert um das Volumen des Verdrängungsscheibchens), f den Querschnitt der Kapillare. Wenn man häufig osmotische Messungen ausführt, lohnt sich die Verwendung eines Nomogramms für diese Berechnung (Abb. 2). Man braucht hier nur die Nummer des Osmometers (Skala 1) mit h_o (Skala 2) zu verbinden und parallel dazu von Δh (Skala 3) zu Skala 4 zu gehen, wo man $\Delta c/c$ findet. Das Nomogramm ist sehr einfach zu zeichnen, da es aus regelmäßig geteilten Leitern besteht.

Bei genauen Messungen muß man auch den Dichteunterschied zwischen der Lösung und dem reinen Lösungsmittel berücksichtigen. Man berechnet den osmotischen Druck nach der Formel

$$\pi = h \varrho_o + H (\varrho - \varrho_o),$$

wobei h die Gleichgewichtssteighöhe, H die Höhe des Kapillarmeniskus über dem Mittelpunkt der Membran bei Erreichen des Gleichgewichtes und ϱ und ϱ_o die Dichte der Lösung bzw. des reinen Lösungsmittels bezeichnen.

Man mißt die osmotischen Drucke bei mehreren Konzentrationen. Trägt man nun die Werte des reduzierten osmotischen Druckes (π/c) in einem Diagramm gegen die dazugehörigen Konzentrationen auf, so kann man durch die Meßpunkte eine glatte Kurve legen, deren Schnittpunkt mit der Ordinate ($= \lim \pi/c$) die Errechnung des Molekulargewichtes nach $M = RT/\lim \pi/c$ gestattet. Mißt man den osmotischen Druck in g/cm² und die Konzentration in g/l, dann ist für eine Temperatur von 25° C für $RT = 25,28 \cdot 10^3$ zu setzen.

Während das Zellvolumen des eben geschilderten Osmometers etwa 0,6 ml beträgt, kann man mit dem Mikroosmometer 2 noch geringere Substanzmengen osmotisch messen, da es ein Zellvolumen von nur 0,15 ml besitzt. Das Osmometer besteht aus zwei Metallteilen, zwischen denen eine Membran und eine Filterpapierscheibe festgehalten werden. Der genauere Bau des Osmometers geht aus der Abb. 3 hervor. Obwohl das Zellvolumen derart gering ist, ist die wirksame Membranfläche doch relativ groß, so daß die Einstellung des Gleichgewichtes nicht wesentlich länger als bei dem zuerst geschilderten modifizierten Injektionsosmometer mit zwei Membranen dauert. Die Handhabung dieses Gerätes ist ähnlich wie bei dem zuerst beschriebenen Mikroosmometer 1.

Die Kapillare kann man entweder mit einem Schliff versehen, so daß sie aus dem Metallkörper des Osmometers entfernt werden kann, oder — was uns vorteilhafter erschien — mit einem geeigneten Kitt (etwa Zinkoxyd mit Wasserglas) dauernd mit dem Metallteil vereinigen.

Für eine Messung mit diesem Osmometer genügen für einen Stoff vom Molgewicht 100.000 bis 200.000 weniger als 5 mg für die konzentrierteste Lösung, die auch bei diesem Osmometer fast vollständig nach der Messung wiedergewonnen werden kann, so daß man das Molgewicht ohne Substanzverluste bestimmen kann. Um beim Füllen eventuell eingeschlossene Luftbläschen zu entfernen, füllt man das Osmometer bis zum oberen Drittel der Kapillare, saugt dann durch Aufziehen des Kolbens der Injektionsspritze einen Teil der Lösung in die Injektionsspritze zurück, so daß das Kapillarniveau gerade noch im sichtbaren Teil der Kapillare bleibt und drückt dann ganz kurz kräftig auf den Kolben der Spritze; dadurch werden Luftblasen aus dem Osmometer in die Kapillare gerissen und können dort aufsteigen.

Gerade bei dem eben geschilderten Mikroosmometer ist die Berücksichtigung der Konzentrationskorrektur für die Auswertung der Messung wesentlich, da eine geringe Verschiebung des Kapillarmeniskus schon eine recht beachtliche Änderung der Konzentration bewirkt, da das Zellvolumen derart gering ist. Eine Verschiebung des Kapillarniveaus von nur 2 mm bewirkt schon eine Konzentrationsänderung von etwa 1%. Kennt man die zu erwartende Steighöhe ungefähr, dann kann man schon am Beginn der Messung diese Steighöhe einstellen, so daß die Konzentrationskorrektur dann vernachlässigt werden kann.

Zum Schluß möchten wir die Vorzüge der beiden Mikroosmometer kurz zusammenfassen:

1. Es genügen 10 bzw. 5 mg eines hochpolymeren Stoffes zur Bestimmung des osmotischen Druckes, die nach der Messung wieder fast vollständig zurückgewonnen werden können.
2. Obwohl die Menge des zur Messung erforderlichen makromolekularen Stoffes so gering ist, ist die Handhabung des Osmometers nicht schwieriger als die der üblichen Osmometer für größere Substanzmengen und erfordert keine zusätzlichen Apparaturen. Die beiden Osmometer sind leicht zu füllen und das gewünschte Kapillarniveau läßt sich bequem einstellen.
3. Die einfache Bauart ermöglicht eine billige Herstellung der Osmometer und bewirkt, daß die Osmometer gegen Störungen kaum anfällig sind (da keine Schliffe, Hähne, Füllrohre usw.).
4. Die Osmometer haben ein weites Anwendungsgebiet, denn Lösung und Lösungsmittel kommen nicht mit Schmiermitteln in Berührung, die selbst bei einer ganz geringen Löslichkeit osmotische Messungen stark verfälschen würden; andererseits genügen Mikromengen hochpolymerer Substanz zur Messung.
5. Die Osmometer sind gegen Temperaturschwankungen relativ unempfindlich, so daß ein einfacher Thermostat mit einer Temperaturschwankung von bis zu 0,1° C zur Messung genügt.
6. Die Geschwindigkeit und Genauigkeit der Messung ist ebenso groß wie bei den üblichen statischen Osmometern für größere Substanzmengen; die Einstellung des Gleichgewichtes läßt sich durch Einstellung der zu erwartenden Steighöhe wesentlich verkürzen.

Zusammenfassung.

Es werden zwei Mikroosmometer beschrieben, die ein Zellvolumen von 0,6 bzw. 0,15 ml haben, so daß man mit ihnen mit weniger als 10 bzw. 5 mg einer hochmolekularen Substanz noch genaue osmotische Messungen zur Bestimmung des Molgewichtes ausführen kann.

Die Substanz kann nach der Messung fast zur Gänze aus den Osmometern zurückgewonnen werden, so daß die Molgewichtsbestimmung fast ohne Substanzverluste möglich ist. Die Handhabung der Osmometer ist sehr einfach und erfordert keinerlei komplizierte oder kostspielige Apparaturen. Zur Füllung wird eine Injektionsspritze mit entsprechend langer Injektionsnadel verwendet, mit der sich die zu erwartende Steig-

höhe leicht einstellen läßt, was die Zeit bis zum Erreichen des Gleichgewichtes wesentlich abkürzt. Da die beiden Osmometer ohne Schliffe und Hähne arbeiten, sind sie wenig anfällig gegen Störungen und können für eine große Anzahl von Lösungsmitteln verwendet werden. Die Geschwindigkeit und Genauigkeit der Messungen sind ebenso groß wie bei den üblichen statischen Osmometern für größere Substanzmengen.

Summary.

A description is given of two microosmometers, with a cell volume of 0.6 and 0.15 ml respectively. With these it is possible to conduct accurate osmotic measurements for the determination of the molecular weight from 10 or 5 mg of a high molecular substance.

After the measurement, the material can be recovered almost completely from the osmometers so that the molecular weight determination can be made without significant loss of material. The manipulation of the osmometers is very simple and requires no complicated or expensive apparatus. An injection syringe with an injection needle of proper length is used for filling. The expected elevation can be easily adjusted with this and the time required for reaching equilibrium is thus greatly shortened. Since the two osmometers operate without ground joints or stopcocks, they are not very susceptible to disturbances and can be employed for a wide variety of solvents. The speed and accuracy of the measurements are just as great as those of the usual static osmometers designed for larger quantities of test materials.

Literatur.

¹ I. W. Breitenbach und E. L. Forster, Österr. Chem.-Ztg. 54, 346 (1953); Österr. Chem.-Ztg. 56, 93 (1955)

Microchimica Acta (Tagung).
O/4.

Zeilenanzahl: 359.

Institut du Radium, Paris.

Anorganische Papierchromatographie.

Von

Michael Lederer.

Mit 5 Abbildungen.

(Eingelangt am 15. März 1955.)

I. Über die chemische Basis der Trennungsvorgänge.

Die große Anzahl der veröffentlichten theoretischen Arbeiten in den verschiedenen Gebieten der anorganischen Chromatographie erlaubt schon, einige wichtige allgemeine Prinzipien zu erkennen. Es ist weiterhin möglich, dieselben Prinzipien bei Ionenaustausch- und Verteilungschromatographie sowie bei der Papierelektrophorese festzustellen, und man kann oft Angaben einer Methode für die Entwicklung einer anderen verwenden.

Die anorganischen Trennungsmethoden durch Papierchromatographie können in drei Hauptgruppen behandelt werden:

- (i) Trennungen mit Lösungsmitteln, die starke Säuren enthalten;
- (ii) Trennungen mit Lösungsmitteln, die schwache Säuren, Basen oder Komplexbildner enthalten;
- (iii) Trennungen, die wir als „Non-equilibrium“-Konditionen bezeichnen möchten.

Jede dieser Gruppen könnte noch in zwei Teile geteilt werden, nach der Polarität der verwendeten Lösungsmittel und der damit verbundenen Trennungen, die auf Polaritätsdifferenzen und nicht auf Komplexbildung beruhen.

- (i) Die Trennungen mit Lösungsmitteln, die starke Säuren enthalten, haben folgende Eigenschaften:

a) Die R_f -Werte bleiben konstant sogar bei unwägbaren Mengen radioaktiver Isotope. Dies wurde mit zahlreichen Lösungsmitteln, z. B. Aceton-HCl, Butanol-HCl, Phenol-HCl und Butanol-HNO₃, sowie mit zahlreichen Metallen Na, Cs, Zn, Co, Fe, Pd, Pt, Sn, Ba und Bi bei der Darstellung trägerfreier Isotope¹⁻³ bestätigt. Für die Mikrochemie ist dies von Wichtigkeit, da es ermöglicht, minimale Mengen mittels Papierchromatographie zu isolieren, die vielleicht erst bei Irradiation mit Neutronen oder ähnlichen Methoden nachweisbar sind.

b) Ionenaustauschigenschaften des Papiers sind in Gegenwart der starken Säure völlig unterdrückt. Durch Vergleiche eines mit dem Kationaustauscher Dowex-50 imprägnierten Papiers⁴ mit gewöhnlichem Whatman No. 1 konnten wir in zahlreichen Fällen keine R_f -Wertunterschiede konstatieren. Dagegen ist der Ionenaustausch bei Lösungsmitteln mit schwachen Säuren oder Komplexbildnern genügend groß, um die Trennungen trägerfreier Isotope zu verändern, wie Frierson et al.⁵ mit Zn und As und wir⁶ mit Cer und Yttrium konstatiert haben. Ähnlich verhält es sich auch mit Trennungen, die ohne Gleichgewicht, das heißt, in ungesättigter Atmosphäre ausgeführt werden.

Da die Gegenwart der starken Säure Nebeneffekte unterdrückt, ist es möglich, in solchen Fällen die Angaben der Ionenaustauschstudien sowie der Lösungsmittelverteilung und der Papierelektrophorese für die Ausarbeitung papierchromatographischer Methoden zu verwenden.

Es werden jetzt einige Beispiele angeführt, wie dieselbe differentielle Komplexbildung zur analytischen Trennung verwendet wird:
In 6-m Salzsäure ist Fe(III) als Anion des Typs FeCl_4^- vorhanden,

während Al(III) als Kation vorliegt. Zur Trennung von Fe(III) und Al(III) wurden die folgenden Methoden verwendet:

(i) Extraktion mit Äther aus wäßriger 6-m Salzsäure: HFeCl_4 wird zu 99% extrahiert; Al(III) bleibt in der wäßrigen Phase.

(ii) Papierchromatographie mit Butanol, das mehr als 3-n Salzsäure enthält, trennt Fe(III) von Al(III). In diesem Fall ist schon in 3-n Salzsäure genügend FeCl_3 vorhanden, um eine R_f -Differenz zu verursachen, weil in alkoholischer Lösung die Hydratation von Fe(III) geringer ist als in einer wäßrigen Phase.

(iii) Adsorption des Al(III) auf Kationenaustauschern (z. B. Dowex-50), während Fe(III) mit 6- bis 12-m HCl eluiert wird.

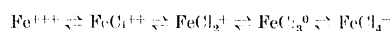
(iv) Adsorption des FeCl_4^- auf Anionenaustauschern (z. B. Dowex-1) aus 6-m HCl; Al(III) läuft durch.

(v) Papierelektrophorese wäre möglich, doch ist die praktische Ausführung mit 6-m HCl wegen hoher Stromstärke ausgeschlossen.

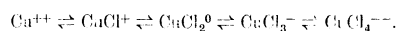
Hiermit ist die Angabe, daß in 6-m Salzsäure Fe(III) als Anion vorliegt, genügend, um alle erwähnten Trennungen vorauszusehen.

Ähnliche Analogien zwischen Anionenaustrennungen und Papierchromatographie existieren für eine Anzahl anderer Metalle: Die Trennung Pt(IV)-Ir(IV) ist mit beiden Methoden unmöglich, dagegen die Trennung Pt(IV)-Ir(III) mit beiden ausführbar. Trennungen, wie Al-In-Tl, verlaufen in der gleichen Reihenfolge auf Dowex-1, wo Al als erstes eluiert wird und mit Butanol — 1-n HCl auf Papier, wo Al am wenigsten wandert.

Für alle angeführten Trennmethode ist eben nur das Verhalten der Ionen in HCl verschiedener Konzentrationen von Wichtigkeit. Die Alkalien, Erdalkalien und die Metalle der Gruppe III mit Ausnahme von Be und Sc zeigen überhaupt keine Tendenz, Komplexe zu bilden, bleiben in der Papierchromatographie bei $R_f = 0$ bis 0.15 und werden von Dowex-1-Kolonnen nicht adsorbiert. Sehr stark komplexgebundene Ionen, wie PtCl_6^{--} , TiCl_4^- , AuCl_4^- , PdCl_4^{--} und BiCl_4^- , bleiben bei allen Verdünnungen von HCl anionisch. R_f -Wertverschiebungen und Elutionssequenzverschiebungen sind nur durch radikale Änderungen des Lösungsmittels oder der Austauschgleichgewichte möglich. Schließlich gibt es noch eine wichtige Gruppe, zu der Fe(III), Ga(III), Co(II), Cu(II) usw. gehören, die mit steigender HCl-Konzentration mehr komplexiert werden. Ein typisches Gleichgewicht ist das von Fe(III):



oder das von Cu(II)



Wenn, wie im Falle von Cu(II), zwei verschiedene Anionkomplexe möglich sind, existiert auch meistens ein Extraktions- bzw. Adsorptionsmaximum bei einer bestimmten HCl-Konzentration.

Die Arbeiten von Kraus und Moore⁷ behandeln dieses Thema für den Anionenaustausch mit Dowex-1. Die Metalle Zn(II), Cu(II) und Co(II) weisen scharfe Maxima bei 2-m, 6-m bzw. 8-m Konzentration auf, während Fe(III) mit steigender HCl-Konzentration mehr adsorbiert wird.

Die Arbeit von Reeves und Crumpler⁸ enthält die R_f -Werte derselben Metalle mit Butanol, dem 15, 20, 25 und 30% 12-m HCl zugesetzt wurden. Die Reihenfolgen der beiden Untersuchungen sind beinahe identisch, dagegen wandert Zn(II) nicht langsamer auf dem Papier bei höheren HCl-Mengen, während die Gegenwart von mehr HCl in der Lösung das Ion ZnCl_4^{--} vom Austauscher verdrängt. Siehe Abb. 1.

Nun noch einige Bemerkungen über polare Lösungsmittel in der Papierchromatographie. Die Alkalien können mit Methanol⁹, Äthanol-Wasser-Mischungen¹⁰ sowie mit Äthanol-Methanol¹¹ getrennt werden. Die Reihenfolge, ob als Chloride⁹⁻¹¹ oder als Acetate¹², ist immer die der Ionenpotentiale Li-Na-K während Rb und Cs sowohl voneinander als von K schwer trennbar sind. Mit Erdalkalien kann man dieselben Folgen bei Acetaten¹², Chloriden und Rhodaniden^{6, 9} konstatieren. Obwohl Komplexbindung in einigen Fällen wichtig ist, ist der Trenneffekt immer von dem Wassergehalt der Lösungsmittel abhängig, wie wir bei der

Trennung von Ra und Ba gezeigt haben⁶. Wieder sind analoge Trennungen mit Ionenaustauschern möglich, wie aus Arbeiten von *Rieman et al.*¹³ sowie *Anderen*¹⁴ ersichtlich ist.

(ii) *Trennungen mit Lösungsmitteln, die schwache Säuren, Basen oder Komplexbildner enthalten.*

Hier ist nur zu bemerken, daß im Ganzen dieselben Prinzipien, d. h. Extraktion unter Gleichgewicht zwischen freien und komplexierten Ionen, die Trenneffekte leiten. Die Arbeiten von *Pollard, McOmie et al.*¹⁵ zeigen besonders, wie Trennungen mit verschiedenen Komplexbildnern, wie Acetylaceton, ausgearbeitet werden können. Die Trennmöglichkeiten werden natürlich durch die große Auswahl der organischen Verbindungen gesteigert. Dagegen sind die Trennungen oft bei großen Konzentrationsunterschieden der zu trennenden Mischung unverlässlich und vor allem die R_f -Werte leicht beeinflusst.

(iii) *Trennungen unter „Non-equilibrium“-Konditionen.*

Als typischen Fall nehmen wir die Extraktion von UO_2^{++} , das von einem nassen aufgetragenen Fleck am Papier mit trockenem Äther — 2% HNO_3 extrahiert wird. Da das Uran mit der Lösungsfront wandert, d. h. vollkommen und ohne Adsorption vom Start ausgewaschen wird, erlaubt das Entwickeln auf trockenem Papier die irreversible Adsorption anderer Ionen. Auf diesem Wege wird eine Trennung erhalten, die viel besser ist als eine, wo ein Gleichgewichtsprozeß mit kalkulierbaren Verunreinigungen verwendet wird. Dagegen eignet sich dieses Verfahren nur für spezifische Extraktionen von einem Ion, möglicherweise von zwei Ionen mit zwei aufeinanderfolgenden Lösungsmitteln¹⁶.

II. Einige neue Trennungen und Lösungsmittel.

(i) *Das Verhalten von Se(IV) und Te(IV) in verschiedenen Lösungsmitteln.*

Eine Trennung von Se(IV) und Te(IV) wurde von *Burstall et al.*⁹ unter „Non-equilibrium“-Konditionen durchgeführt. Wir haben in früheren Veröffentlichungen die Trennung Se-Te-Po mit Butanol — 1-n HCl sowie die Trennung Se-Te mit Butanol — 10% HNO_3 beschrieben. In beiden Lösungsmitteln wandern diese zwei Elemente ungefähr gleich: Te mit $R_f = 0,18$ und Se mit $R_f = 0,67$. Daraus wäre zu schließen, daß Te als Kation oder starkes Anion, aber Se als schwaches Anion (z. B. als H_2SeO_3) vorhanden ist. Se-Komplexe mit Chlor sind ausgeschlossen durch den gleichen R_f -Wert in dem Butanol — HNO_3 -Gemisch. Durch Papier-elektrophorese mit 0,5-n HCl konnte das kationische Verhalten von Te(IV) festgestellt, somit die Möglichkeit des starken Anions TeO_3^{--} ausgeschlossen werden. Dieses Verhalten von Te(IV) ist aber schwer mit anderen Eigenschaften vereinbar, wie z. B. seine Flüchtigkeit in kochender Salzsäure oder kochender Bromwasserstoffsäure.

Die Komplexchemie dieser zwei Elemente wurde erfolgreich durch Papierchromatographie untersucht, wo bei verschiedenen Lösungsmitteln und verschiedenen Säurekonzentrationen die folgenden Resultate verzeichnet werden konnten:

Butanol — HCl:

Für diese Versuche wurden je 100 mg von Na_2SeO_3 und Na_2TeO_3 in 10 ml 3-n Salzsäure aufgelöst. Mengen von ungefähr 0,02 ml wurden mittels eines Glasstabes auf Whatman-No. 1-Bogen 30×30 cm aufgetragen und nach der aufsteigenden Methode entwickelt. Tabelle 1 gibt die R_f -Werte mit Butanol — Wasser und Butanol, das mit verschiedenen Konzentrationen von HCl gesättigt wurde, an.

Tabelle 1.

Lösungsmittel	Butanol Wasser	Butanol 1-n HCl	Butanol 1,5-n HCl	Butanol 2-n HCl	Butanol 3-n HCl
Se(IV)	0,57	0,67	0,64	0,71	0,78
Te(IV)	0,15	0,18	0,31	0,47	0,67

Butanol — Salpetersäure:

Natriumselenit und -tellurit wurden in 1,5-n HNO_3 gelöst. Sonst wurde dieselbe Methode wie oben verwendet. In Tabelle 2 sind die R_f -Werte in Butanol — wäßriger HNO_3 verzeichnet.

Tabelle 2.

Lösungsmittel	Butanol Wasser	Butanol 1,5-n HNO_3	Butanol 3-n HNO_3
Se(IV)	0,54	0,59	0,69
Te(IV)	0,004	0,15	0,18

Butanol — Bromwasserstoffsäure:

Für die Versuche mit HBr wurden die obenerwähnten Natriumsalze in 0,85-n HBr gelöst. Die R_f -Werte sind in Tabelle 3 verzeichnet.

Tabelle 3.

Lösungsmittel	Butanol 10% HBr	Butanol 20% HBr
Se(IV)	0,64	0,73
Te(IV)	0,46	0,92

Butanol — Schwefelsäure- und Butanol — Phosphorsäure-Gemische:

Im Gemisch Butanol — H_2SO_4 -Schwefelsäure-Wasser (100:10:90) wandert Se(IV) mit der Säurefront und Te(IV) bleibt bei $R_f = 0,1$. Mit Butanol-Phosphorsäure-Wasser (100:20:80) wandert Se(IV) mit $R_f = 0,58$ und Te(IV) mit $R_f = 0,026$.

Für eine leichtere Deutung dieser Resultate wurde die graphische Darstellung II angefertigt. In Butanol — HNO_3 -Mischungen steigen die R_f -Werte von Se und Te mit steigender Säuremenge gleichmäßig an. Dies ist auf den steigenden Wassergehalt der beweglichen Phase zurückzuführen. In Butanol — HCl und Butanol — HBr steigen die R_f -Werte von Se um ungefähr denselben Wert. Hieraus ist zu schließen, daß Se(IV) als dasselbe Ion in allen untersuchten Lösungsmitteln vorliegt; das heißt, der Verteilungskoeffizient ist nicht durch die Konzentration und die Qualität des im Lösungsmittel gegenwärtigen Anions beeinflusst. Dagegen ist der Einfluß von HCl und HBr auf den R_f -Wert von Te um so markanter. Hiermit ist der Übergang des Te(IV) von einer kationischen Form in verdünntem HCl, HNO_3 , HBr, H_2SO_4 und H_3PO_4 zu einer kovalenten Form etwa TeCl_4 oder TeBr_4 bei höheren HCl- und HBr-Konzentrationen anzunehmen, wie auch schon die Flüchtigkeit in konz. HCl oder HBr gezeigt hat. Se(IV) scheint in allen untersuchten Lösungen als H_2SeO_3 zu existieren.

Die hier erhaltenen Daten können für die Ausarbeitung von anderen Trennmethode verwendet werden. Wenn aus irgendeinem Grund eine Trennung in HCl oder HBr erfolgen soll, muß die Konzentration dieser Säuren sehr niedrig gehalten werden, gleich ob man Ionenaustausch, Extraktion mit einem Lösungsmittel oder Papierelektrophorese zu verwenden beabsichtigt. Mit 5% HBr als Elektrolyt haben wir dies bei der Papierelektrophorese bestätigt, wo mit 150 Volt Se(IV) in zwei Stunden nicht wandert, während Te(IV) sich 16 mm in der Richtung zur Kathode bewegt.

Einige andere Elemente könnten auch interessante analytische Daten mit ähnlichen Studien liefern, z. B. hat Hecht¹⁷ mit Butanol — 10% HNO_3 und Butanol — 10% HBr und wir¹⁸ mit Butanol — 10% HCl denselben R_f -Wert für Ge(IV) ($R_f = 0,26$) gemessen. Da GeCl_4 und GeBr_4 in konzentrierten Säuren destillierbar sind, scheint eine R_f -Wertverschiebung mit höheren Säurekonzentrationen gegeben und für Trennungen von anderen Elementen von Interesse zu sein.

(ii) Trennungen von K-Rb-Cs.

Vor einiger Zeit hat Steel¹⁹ die Trennung von K-Rb-Cs mit Phenol, das mit 2-n HCl gesättigt ist, ausgearbeitet. Dieses Lösungsmittel weist bessere

R_f -Wertunterschiede als früher vorgeschlagene Mischungen (Miller und Magee²⁰) auf, außerdem konnten wir mit ^{131}Cs nachweisen, daß Trennungen auch mit unwägbaren Mengen möglich sind²³. Hiermit war es uns ermöglicht mit Mme Laberrigue²¹ ein radiochemisch reines Rb-Präparat herzustellen. Versuche von Emery et al.²² in derselben Richtung, aber mit Umkristallisation des Tartrats als Trennungsmethode konnte nach sieben Umkristallisationen das ^{134}Cs nur auf 0,05% herabsetzen, dagegen konnte das chromatographisch gewonnene ^{86}Rb als vollkommen rein betrachtet werden, wie auch Abb. 3 zeigt.

Tabelle 4. R_f -Werte in Phenol - 2-n HCl.

Ion	R_f -Wert	Ion	R_f -Wert	Ion	R_f -Wert
Cs ⁺	0,52	Cu ⁺⁺	0,025	UO ₂ ⁺⁺	0,01
Rb ⁺	0,26	Bi ⁺⁺⁺	0,015	Th ^{IV}	0,0
K ⁺	0,19	Hg ⁺⁺	0,045	Zr ^{IV}	0,022
Ba ⁺⁺	0,0	Cd ⁺⁺	0,0	Ti ^{IV}	0,0
Sr ⁺⁺	0,0	Pb ⁺⁺	0,0	V ^V	0,0
Ca ⁺⁺	0,0	As ⁺⁺⁺	0,30	Al ⁺⁺⁺	0,0
Mg ⁺⁺	0,0	Sb ⁺⁺⁺	0,26	Cr ⁺⁺⁺	0,0
Ag ⁺	0 bis 0,68	Sn ⁺⁺	0,28	La ⁺⁺⁺	0,0
	Komet	Fe ⁺⁺⁺	0,01	Seltene	0,0
Tl ⁺	0,56 Komet	Co ⁺⁺	0,018	Erden	
Au ⁺⁺⁺	0,24	Ni ⁺⁺	0,0	SeO ₃ ⁻⁻⁻	0,23
Pd ⁺⁺	0,0	Zn ⁺⁺	0,038	TeO ₃ ⁻⁻⁻	0,06
Pt ^{IV}	0,0	Mn ⁺⁺	0,0	MoO ₄ ⁻⁻⁻	0,0

Da die Herstellung von reinen Rb- und Cs-Salzen auch noch für andere Zwecke von Interesse ist, haben wir die Messung der R_f -Werte einer großen Anzahl von Ionen mit Phenol - 2-n HCl unternommen. Tabelle 4 zeigt die R_f -Werte der Ionen. Die einzigen metallischen Verunreinigungen wären hiermit Ag und Tl, die aber mit anderen Methoden leicht abzutrennen sind. Für die Darstellung von trägerfreiem ^{131}Cs von in Harwell mit Neutronen bestrahltem BaCl₂ waren die folgenden radioaktiven Nuclide zu trennen: ^{131}Ba , ^{32}P und ^{35}S .

Durch Umkristallisation in konz. HCl wurde das meiste Ba gefällt. ^{32}P und ^{35}S wurden durch wiederholtes Einengen mit Königswasser in Orthophosphat und Sulfat verwandelt. Mit Phenol - 2-n HCl bleiben Ba und S am Start, während ^{32}P mit dem Cs wandert. Die Zone des Cs wurde dann mit verdünnter Salzsäure ausgewaschen, auf einige Tropfen eingengt und auf einem neuen Bogen Papier mit Butanol - 1-n HCl entwickelt, womit sich eine Trennung (Cs: $R_f = 0,1$, PO₄⁻⁻⁻: $R_f = 0,7$) ergibt. Durch Anwendung von zwei Lösungsmitteln scheint es hiermit möglich, absolut reine Rb- und Cs-Präparate mit Phenol - 2-n HCl zu erhalten.

(iii) Chromatographie mit Butanol - Schwefelsäure- und Butanol - Phosphorsäure-Gemischen.

In früheren Arbeiten²³ wurden R_f -Werte in Butanol - HCl-, - HBr und - HNO₃-Gemischen für zahlreiche Ionen angegeben. Nach den Überlegungen im ersten Teil dieser Mitteilung wäre die Ausarbeitung von Lösungsmitteln, die eine noch kleinere Tendenz zur Komplexbildung haben, von gewissem Interesse für die Trennung von Anionen und Kationen. Für diesen Zweck wurden die Lösungsmittel Butanol-Schwefelsäure-Wasser (100 : 10 : 90) und Butanol-o-Phosphorsäure-Wasser (100 : 20 : 80) untersucht. Abb. 4 und 5 zeigen die erhaltenen R_f -Werte.

Mit Ausnahme von U(VI) bleiben alle gewöhnlichen metallischen Ionen wie erwartet in der Zone $R_f = 0$ bis 0,1. Bei U(VI) haben wir mit Bachelet und Claude²⁴ die Bildung anionischer Verbindungen in Sulfat- und Phosphatlösungen durch Papierelektrophorese nachgewiesen. Hingegen sind Trennungen, wie Zn - PO₄⁻⁻⁻, leicht durchführbar, die in Butanol - HCl untrennbar sind. Hg(II) wandert auch in Butanol - H₂SO₄, aber hier scheinen die Spuren von Chloriden, die in ungereinigtem Papier vorhanden sind, für die Bildung von HgCl₂ verantwortlich zu sein.

Literatur.

- ¹ M. Lederer, *Analyt. Chim. Acta* 8, 134 (1953).

- ² M. Lederer, *Analyt. Chim. Acta* **11**, 528 (1954).
- ³ G. Bouissières und M. Lederer, *Bull. soc. chim. France* **1952**, 904.
- ⁴ M. Lederer, *Analyt. Chim. Acta* **12**, 142 (1955).
- ⁵ W. J. Frierson, S. L. Hood, I. B. Whitney und C. L. Comar, *Arch. Biochem. Biophysics* **38**, 397 (1952).
- ⁶ M. Lederer, Thèse de doctorat, Paris, 1954.
- ⁷ K. A. Kraus und G. E. Moore, *J. Amer. Chem. Soc.* **75**, 1457, 1460 (1953).
- ⁸ K. A. Kraus, F. Nelson und G. W. Smith, *J. Physic. Chem.* **58**, 11 (1954).
- ⁹ W. A. Reeves und T. B. Crumpler, *Analyt. Chemistry* **23**, 1576 (1951).
- ¹⁰ F. H. Burstall, G. R. Davies, R. P. Linstead und R. A. Wells, *J. Chem. Soc. London* **1950**, 516.
- ¹¹ S. Chakrabarti und D. P. Burma, *Science and Culture* **16**, 485 (1951).
- ¹² T. Barnabas, M. G. Badve und J. Barnabas, *Naturwiss.* **41**, 478 (1954).
- ¹³ H. Erlenmeyer, H. v. Hahn und E. Sorkin, *Helv. Chim. Acta* **34**, 1419 (1951).
- ¹⁴ M. Lerner und W. Rieman, *Analyt. Chemistry* **26**, 610 (1954).
- ¹⁵ R. C. Sweet, W. Rieman und J. Beukenkamp, *Analyt. Chemistry* **24**, 952 (1952).
- ¹⁶ E. R. Tompkins, J. X. Khym und W. E. Cohn, *J. Amer. Chem. Soc.* **69**, 2769 (1947).
- ¹⁷ F. H. Pollard und J. F. W. McOmie, *Chromatographic Methods of Inorganic Analysis*. London: Butterworths. 1953.
- ¹⁸ A. F. Williams, *J. Chem. Soc. London* **1952**, 3155.
- ¹⁹ I. M. Ladenbauer, L. K. Bradacs und F. Hecht, *Mikrochim. Acta [Wien]* **1954**, 388.
- ²⁰ I. M. Ladenbauer und F. Hecht, *Mikrochim. Acta [Wien]* **1954**, 398.
- ²¹ M. Lederer, *Analyt. Chim. Acta* **11**, 132 (1954).
- ²² A. E. Steel, *Nature* **173**, 315 (1954).
- ²³ C. C. Miller und R. J. Magee, *J. Chem. Soc. London* **1951**, 3183.
- ²⁴ M. Lederer und Laberrigue, im Druck.
- ²⁵ E. W. Emery, J. E. S. Bradley und N. Veall, *Nature* **175**, 34 (1955).
- ²⁶ E. Lederer und M. Lederer, *Chromatography. A Review of Principles and Applications*. Amsterdam: Elsevier. 1953.
- ²⁷ M. Bachelet, R. Claude und M. Lederer, *C. r. acad. sci., Paris* **240**, 419 (1955).

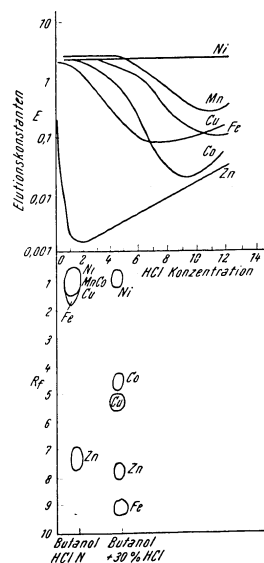


Abb. 1. Elutionskonstanten auf Dowex-1 verglichen mit R_f -Werten mit Butanol-HCl-Gemischen.

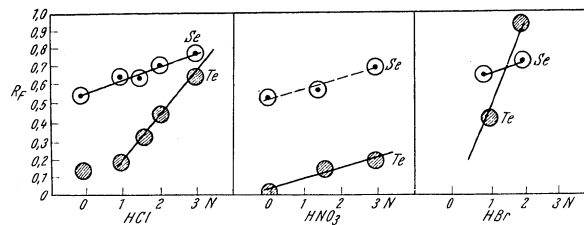
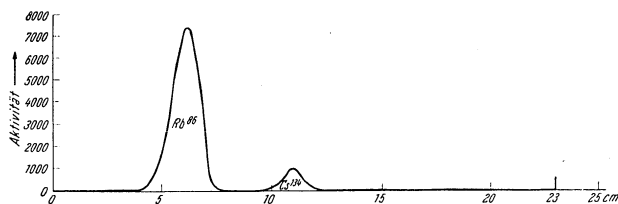
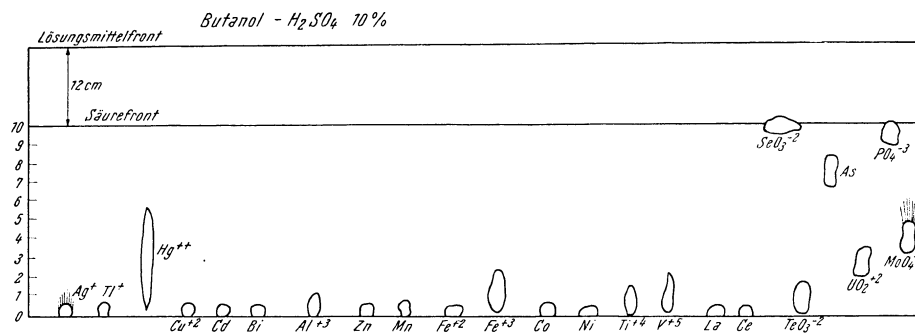
Abb. 2. R_f Werte von Selenit und Tellerit mit Gemischen von Butanol und Säuren.Abb. 3. Trennung Rb-Cs. Ein chemisch „reines“ Rubidium-Chlorid wurde mit Neutronen bombardiert und mit Phenol + 2n HCl chromatographiert. Die kleine Aktivität entspricht ^{137}Cs , das komplett von ^{86}Rb getrennt ist.

Abb. 4.

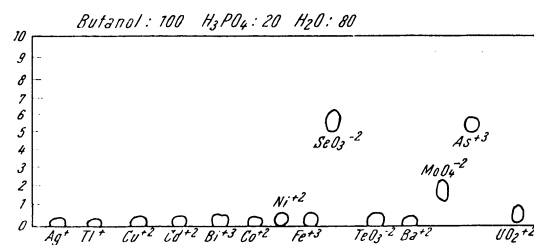


Abb. 5.

Institut für Analytische Chemie T. N. O. Rijswijk, Holland.

**Eine neue selektive und empfindliche
Wismutbestimmung.**

Von

M. Oosting.

Mit 2 Abbildungen.

(Eingelangt am 14. März 1955.)

Bei der Bestimmung von Wismutspuren in anorganischem Material ist es kaum zu vermeiden, daß nach Lösen der Probe eine geringe Wismutmenge in verhältnismäßig viel wäßriger Lösung vorhanden ist. Daher ist die Anwendung mikrogravimetrischer Methoden wie auch jener volumetrischen Methoden weniger angebracht, die auf der jodometrischen Titration (nach Lang) von Niederschlägen beruhen, die schematisch zusammengefaßt werden können durch die Formel $[\text{Base}-\text{Bi}-\text{J}]^1$. Aus diesem Grunde ziehen wir eine kolorimetrische Bestimmungsmethode vor.

Um die Empfindlichkeit zu steigern und Störung durch Eigenfarbe anderer Ionen zu beseitigen, empfehlen wir eine Methode, wobei eine gefärbte Wismutverbindung mit einem mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmittel extrahiert werden kann. Von den auf diesem Prinzip beruhenden Methoden nennen wir

1. Die Bestimmung mit Dithizon². Bei Vorhandensein vieler Salze soll aber keine völlige Extraktion zu erreichen sein. Die Trennung von größeren Mengen Blei scheint schwierig zu sein. Bei pH 4 soll schon Blei, bei pH 3 aber das Wismut erst nach öfterem Ausschütteln völlig extrahiert werden³.

2. Die Bestimmung als Diäthylthiocarbamat durch Extraktion aus schwach saurer Lösung⁴ ist wenig selektiv. Die Wismutextraktion als Diäthylthiocarbamat aus alkalischer Lösung (pH 11 bis 12) bei Anwesenheit von Kaliumcyanid und Komplexon soll sehr selektiv sein⁵. Die Lichtabsorptionsmessung findet jedoch bei einer Wellenlänge von 3650 Å statt, also außerhalb des Bereiches beider von uns benutzten Apparate (Engel-Kolorimeter > 4300 Å, Coleman-Jr.-Spektrophotometer > 4000 Å), während Messungen mit einem Blaufilter weniger empfindlich sein sollen⁵.

3. Die gelbe Farbe, die sich aus Wismut und Jodid bildet, kann mit einem Gemisch von Amylalkohol und Äthylacetat extrahiert werden⁶. Diese Bestimmungsmethode wird aber namentlich durch Antimon und Zinn stärker gestört als die von uns vorgeschlagene. Dazu kommt, daß in unserem Institut das Extraktionsverfahren häufig angewendet wird, weshalb wir nach einer größtmöglichen Einheitlichkeit der verwendeten Reagenzien streben. Da sehr viele Extraktionen mit Chloroform ausgeführt werden, ziehen wir es vor, auch für die Wismutextraktion Chloroform anzuwenden. Hierin ist aber die Wismut-Jodid-Verbindung unlöslich.

Wir untersuchten daher die Extrahierbarkeit der in der Mikrogravimetrie und -volumetrie gebrauchten Komplexe $[\text{Base}-\text{Bi}-\text{J}]$. Mehrere organische Basen bildeten zwar eine unlösliche Verbindung mit Bi- und J-Ionen, die sich aber leider auch fast alle als in Chloroform unlöslich erwiesen. Eine mit Chloroform extrahierbare Verbindung bildet sich jedoch bei Anwendung von Brucin als organische Base.

Aus der Extinktionskurve ist zu ersehen, daß eine Wellenlänge von 4300 Å (beim Gebrauch des Engel-Kolorimeters: Filter 45) für kolorimetrische Bestimmungen anwendbar sein muß (siehe Abb. 1).

Aus der Eichkurve ist zu entnehmen, daß das Lambert-Beersche Gesetz

Institut für Analytische Chemie T. N. O. Rijswijk, Holland.

**Eine neue selektive und empfindliche
Wismutbestimmung.**

Von

M. Oosting.

Mit 2 Abbildungen.

(Eingelangt am 14. März 1955.)

Bei der Bestimmung von Wismutspuren in anorganischem Material ist es kaum zu vermeiden, daß nach Lösen der Probe eine geringe Wismutmenge in verhältnismäßig viel wässriger Lösung vorhanden ist. Daher ist die Anwendung mikrogravimetrischer Methoden wie auch jener volumetrischen Methoden weniger angebracht, die auf der jodometrischen Titration (nach Lang) von Niederschlägen beruhen, die schematisch zusammengefaßt werden können durch die Formel $[\text{Base}-\text{Bi}-\text{J}]^1$. Aus diesem Grunde ziehen wir eine kolorimetrische Bestimmungsmethode vor.

Um die Empfindlichkeit zu steigern und Störung durch Eigenfarbe anderer Ionen zu beseitigen, empfehlen wir eine Methode, wobei eine gefärbte Wismutverbindung mit einem mit Wasser nicht mischbaren Lösungsmittel extrahiert werden kann. Von den auf diesem Prinzip beruhenden Methoden nennen wir

1. Die Bestimmung mit Dithizon². Bei Vorhandensein vieler Salze soll aber keine völlige Extraktion zu erreichen sein. Die Trennung von größeren Mengen Blei scheint schwierig zu sein. Bei pH 4 soll schon Blei, bei pH 3 aber das Wismut erst nach öfterem Ausschütteln völlig extrahiert werden³.

2. Die Bestimmung als Diäthylthiocarbamat durch Extraktion aus schwach saurer Lösung⁴ ist wenig selektiv. Die Wismutextraktion als Diäthylthiocarbamat aus alkalischer Lösung (pH 11 bis 12) bei Anwesenheit von Kaliumcyanid und Komplexon soll sehr selektiv sein⁵. Die Lichtabsorptionsmessung findet jedoch bei einer Wellenlänge von 3650 Å statt, also außerhalb des Bereiches beider von uns benutzten Apparate (Engel-Kolorimeter > 4300 Å, Coleman-Jr.-Spektrophotometer > 4000 Å), während Messungen mit einem Blaufilter weniger empfindlich sein sollen⁶.

3. Die gelbe Farbe, die sich aus Wismut und Jodid bildet, kann mit einem Gemisch von Amylalkohol und Äthylacetat extrahiert werden⁶. Diese Bestimmungsmethode wird aber namentlich durch Antimon und Zinn stärker gestört als die von uns vorgeschlagene. Dazu kommt, daß in unserem Institut das Extraktionsverfahren häufig angewendet wird, weshalb wir nach einer größtmöglichen Einheitlichkeit der verwendeten Reagenzien streben. Da sehr viele Extraktionen mit Chloroform ausgeführt werden, ziehen wir es vor, auch für die Wismutextraktion Chloroform anzuwenden. Hierin ist aber die Wismut-Jodid-Verbindung unlöslich.

Wir untersuchten daher die Extrahierbarkeit der in der Mikrogravimetrie und -volumetrie gebrauchten Komplexe $[\text{Base}-\text{Bi}-\text{J}]$. Mehrere organische Basen bildeten zwar eine unlösliche Verbindung mit Bi- und J-Ionen, die sich aber leider auch fast alle als in Chloroform unlöslich erwiesen. Eine mit Chloroform extrahierbare Verbindung bildet sich jedoch bei Anwendung von Brucin als organische Base.

Aus der Extinktionskurve ist zu ersehen, daß eine Wellenlänge von 4300 Å (beim Gebrauch des Engel-Kolorimeters: Filter 45) für kolorimetrische Bestimmungen anwendbar sein muß (siehe Abb. 1).

Aus der Eichkurve ist zu entnehmen, daß das Lambert-Beersche Gesetz

bei den von uns gewählten Bedingungen (auffüllen des Extraktes auf 25 ml) bis zu 400 μg Bi erfüllt wird (siehe Abb. 2). Störungen können auftreten bei Anwesenheit jener Ionen, die auch die gravimetrische Bestimmung stören, in diesem Fall zwar nicht, weil ein Jodniederschlag (Ag, Cu, Hg, Pb) fälschlich als Wismutverbindung gewogen würde, sondern weil ein solcher Niederschlag, der vor der kolorimetrischen Bestimmung abfiltriert wird, Wismut einschließen könnte. Cadmium stört, vielleicht durch Komplexbildung mit Jodidionen, genau so wie bei der Wismutbestimmung mit Jodid⁶. Antimon und Zinn stören, da sie gleichfalls mit Jodid und Brucin extrahierbare, gefärbte Komplexe bilden. Die Störung ist jedoch verhältnismäßig geringer als eine vergleichbare Störung bei der Wismutbestimmung durch Extraktion des Jodidkomplexes.

Eine mögliche Störung durch oxydierende Verbindungen (Jodbildung) kann beseitigt werden durch Zusetzen von schwefliger Säure.

Wenn eine solche Störung dieser Methode zu befürchten ist, kann das Wismut vorher als Diäthylthiocarbamat von nahezu allen anderen Elementen abgetrennt werden⁵.

Wir untersuchten diese Abtrennung in verschiedenen Fällen, um festzustellen, ob auch bei größeren Mengen von Kupfer bzw. Blei neben Wismut noch eine quantitative Abtrennung möglich ist.

Die Resultate einiger Bestimmungen, sowohl direkt als auch nach vorhergehender Abtrennung mittels DDC sind in nachfolgender Tabelle zusammengefaßt (siehe auch Abb. 2).

μg Bi gegeben	Störende Ionen	μg Bi gefunden	
		direkt	mittels DDC
150	5 mg Cd^{2+}	118	148
150	5 mg Zn^{2+}	148	150
150	5 mg Al^{3+} , 5 mg Cr^{3+}	147	148
150	5 mg Co^{2+} , 5 mg Ni^{2+}	148	149
150	5 mg Ag^+	153	150
150	5 mg Hg^{2+}	150*	150
150	5 mg Sb^{3+}	179	149
150	5 mg As^{3+}	150	151
150	5 mg Sn^{4+}	184	149
150	5 mg Fe^{3+}	147	148
150	5 mg Mn^{2+}	152	147
150	25 mg Cu^{2+}	—	151
50	100 mg Cu^{2+}	—	50
30	250 mg Cu^{2+}	—	29
50	500 mg Cu^{2+}	—	51
275	250 mg Cu^{2+}	—	280
50	100 mg Pb^{2+}	—	51
50	250 mg Pb^{2+}	—	50
20	250 mg Pb^{2+}	—	18
200	250 mg Pb^{2+}	—	196

* Hier wurden 6 ml 10% KJ hinzugefügt; bei Anwendung von 3 ml KJ wurden 120 μg Bi gefunden. Der Hg_2J_2 -Niederschlag störte ebensowenig wie der von AgJ, wenn die Chloroformextrakte vor der Messung filtriert wurden.

Ausführung der Wismutbestimmung.

Wir verwenden zwischen 25 und 100 ml Lösung, die 10 bis 400 μg Bi enthalten darf. Von einer Metallprobe wird soviel eingewogen, daß zwischen 10 und 400 μg Bi zur Analyse gelangen. Diese Probe wird unter Erwärmen in möglichst wenig Salpetersäure ($d = 1,2$) gelöst und die Lösung nach dem Auskochen nitroser Gase mit Wasser auf etwa 50 ml aufgefüllt.

Organisches Material wird mit konz. Schwefelsäure bis zur beginnenden Nebelentwicklung erhitzt; dann wird langsam unter ständigem Erhitzen 70%ige Perchlorsäure zutropft, bis die Lösung gerade klar ist; schließlich wird weiter erhitzt, bis wieder Schwefelsäurenebel auftreten. Nach dem Abkühlen wird mit Wasser auf 50 ml aufgefüllt.

Reagenzien:

Natriumhydroxyd, 2-n;
Natriumcarbonat, 2-m;
Kaliumcyanid, 2½% und 10%;

Komplexon, 2½% und 10%;
 Natriumkaliumtartrat, 10%;
 Na-Diäthylthiocarbamat, 250 mg in 250 ml 2%iger Sodalösung;
 Brucin, 1% in 25%iger Zitronensäurelösung;
 Kaliumjodid, 10%;
 Schwefelsäure, 2-n;
 Schweflige Säure, 1 Teil bei 20° C gesättigter wäßriger Lösung + 1 Teil Wasser.

In einem Schütteltrichter werden zu 50 bis 100 ml der Wismutlösung, die von 10 bis 400 µg Bi enthält und die 1- bis 2-n an Schwefelsäure ist, 2 ml SO₂-Lösung zugefügt, dann 3 ml 10%ige KJ-Lösung und schließlich 5 ml 1%ige Brucincitratlösung. Dann wird durch Schütteln gemischt und mit 5-ml-Portionen Chloroform extrahiert, die nach Filtrieren durch Glaswolle in dem Ablaufrohr des Schütteltrichters in einen trockenen 25-ml-Meßkolben abgelassen werden. In den meisten Fällen ist die Extraktion nach dem zweiten Male schon vollständig.

Der Meßkolben wird mit Chloroform angefüllt, der Inhalt homogenisiert und gegen eine Blindprobe bei einer Wellenlänge von 4250 Å (Coleman Jr) oder mit Filter 45 (Engel-Kolorimeter) gemessen.

Bei Vorhandensein geringerer Mengen störender Elemente setzt man zur sauren Lösung 2 ml 10%iges Kaliumnatriumtartrat, 2-n NaOH, bis die Lösung gerade alkalisch reagiert, 3 ml 2-m Sodalösung, 2 ml 2½%iges Komplexon, 2 ml 2½%iges KCN, und stellt mit NaOH das pH auf 11 bis 12 ein. Dann werden 5 ml Na-DDC zugefügt und mit 3 × 5 ml Chloroform extrahiert. Die Chloroformextrakte werden in ein Becherglas, das 25 ml 2-n H₂SO₄ enthält, abgelassen. Dieses Becherglas wird vorsichtig (am besten auf einer elektrischen Heizplatte) erwärmt. Nachdem alles Chloroform verdampft ist, wobei das Wismut in die wäßrige Phase übergeht und das DDC zerstört wird, bringt man die Lösung quantitativ in einen Schütteltrichter und bestimmt das Wismut wie vorher beschrieben.

Wenn größere Mengen störender Ionen vorhanden sind, muß vor der Abtrennung mittels DDC mehr KCN und/oder Komplexon zugefügt werden. Wenn die Art der störenden Ionen bekannt ist, entnimmt man den Angaben von Bode⁵, ob mehr KCN und/oder mehr Komplexon zur erwünschten Komplexbildung führen. Bei Anwesenheit größerer Mengen störender Ionen ist zu empfehlen, 10%ige Lösungen von KCN und Komplexon zu gebrauchen. Die davon benötigten Mengen müssen für jeden einzelnen Fall berechnet oder bestimmt werden. Zur Orientierung führen wir an, daß zur Komplexbildung von 250 mg Kupfer etwa 10 ml 10%iges KCN, von 250 mg Blei etwa 15 ml 10%iges Komplexon notwendig waren.

Der Autor möchte an dieser Stelle Frl. A. M. G. de Wit für ihre gewissenhafte und genaue Arbeit bei der Entwicklung dieser Methode herzlich danken.

Zusammenfassung.

Wismut kann durch Extraktion des Brucin-Wismut-Jodid-Komplexes mit Chloroform und Messung der Lichtabsorption bei 4250 Å bestimmt werden. Die Bestimmung wird wenig gestört; wenn jedoch Störungen auftreten, kann das Wismut vorher mittels einer Diäthylthiocarbamat-Extraktion bei pH 11 bis 12 in Gegenwart von Kaliumcyanid und Komplexon von nahezu allen Elementen abgetrennt werden, auch wenn diese in großem Überschuß vorhanden sind.

Summary.

Bismuth can be determined by extracting the brucine-bismuth-iodide complex with chloroform and measuring the light absorption at 4250 Å. The determination is disturbed but little. If interferences occur at all, the bismuth can be isolated if necessary by extracting with diethylthiocarbamate at pH 11 to 12 in the presence of potassium cyanide and complexone. This separation succeeds from almost all elements, and even if the latter are present in large excess.

Literatur.

¹ R. S. Beale und G. C. Chandler, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **14**, 43 (1942).
 G. Aurisicchio, Industria chim. **7**, 1358 (1932). R. Berg und O. Wurm, Ber.

dtisch. chem. Ges. 60, 1664 (1927). *F. Hecht* und *R. Reissner*, *Z. analyt. Chem.* 103, 88 (1935). *P. Farrini*, *Boll. chim. farm.* 73, 284 (1934). *I. M. Kolthoff* und *F. S. Griffith*, *Mikrochim. Acta* [Wien] 3, 47 (1938). *R. Sazerac* und *J. Pouzergues*, *C. r. soc. biol. Paris* 109 370 (1932). *G. Canneri* und *B. Dino*, *Ann. chim. analyt. chim. appl.* 26, 455 (1936). *M. François* und *L. Seguin*, *J. pharm. chim.* (8) 2, 59 (1925). *M. V. Gapchenko* und *O. G. Sheintzis*, *Zavodskaya Lab.* 4, 835 (1935). *J. R. Hayes* und *G. C. Chandler*, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* 11, 531 (1939). *G. Spacu* und *P. Spacu*, *Z. analyt. Chem.* 93, 260 (1933). *G. Spacu* und *G. Suciu*, *Z. analyt. Chem.* 79, 106 (1929). *S. Takagi* und *Y. Nagase*, *J. Pharm. Soc. Japan* 56, 405 (1936).

² *L. A. Haddock*, *Analyst* 59, 163 (1934).

³ *D. M. Hubbard*, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* 11, 343 (1939). *J. F. Reith* und *C. P. van Dijk*, *Chem. Weekbl.* 36, 343 (1939).

⁴ *S. L. Tompsett*, *Analyst* 63, 250 (1938).

⁵ *H. Bode*, *Z. analyt. Chem.* 143, 182 (1954).

⁶ *C. J. W. Wiegand*, *G. H. Lann* und *F. V. Kalich*, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* 13, 912 (1941).

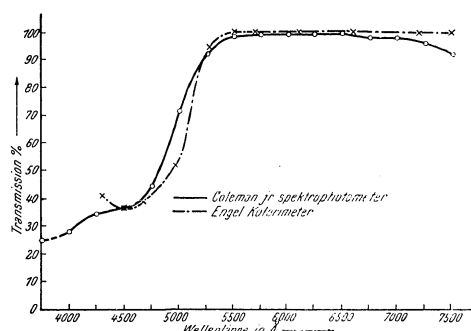


Abb. 1. Transmissionskurve für den Brucin-Bi-J-Komplex in Chloroform.

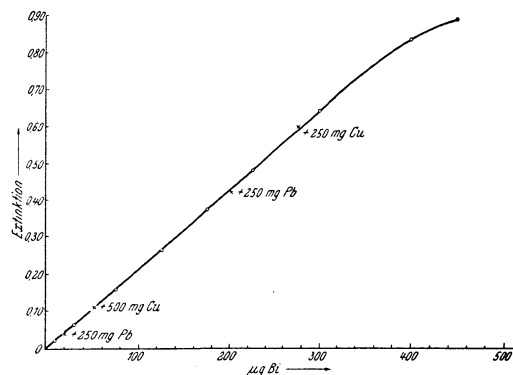


Abb. 2. Eichkurve für die kolorimetrische Bestimmung von Wismut als Brucin-Wismut-Jodid-Komplex. Engel-kolorimeter. Filter 45. Extrakte auf 25 ml angefüllt.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/6.

Zeilenanzahl: 420

Aus dem I. Chemischen Institut der Universität Wien und Österreichischen
Holzforschungsinstitut Wien.

Über den mikroanalytischen Nachweis des Lignins.

Von

Karl Kratzl.

(Eingelangt am 16. März 1955.)

Gymnospermenlignin (Fichte, Tanne usw.) ist nach K. Freudenberg¹ ein Dehydrierungspolymerisat des Coniferylalkohols. Es stellt demnach ein hochmolekulares Kondensat dar, das in Säuren weitgehend unlöslich ist² und in dem gewisse Gruppierungen, die Freudenberg^{1, 3} auch als Zwischenprodukte einer biologischen Dehydrierung des Coniferylalkohols in vitro fassen konnte (I = Dehydrodiconiferylalkohol, II = d,l-Pinorensinol, III = β -Coniferyläther des Guajacylglycerins, IV = Coniferylaldehyd), vorkommen.

Bei den Angiospermen (Buche usw.) tritt als weiterer Baustein die Syringagruppierung hinzu, so daß deren Lignin als Mischdehydrierungspolymerisat des Coniferyl- und Sinapinalkohols aufzufassen ist. Die Monocotyledonen (Bambus usw.) haben noch zusätzlich einen wesentlichen Anteil von p-Oxyphenylbausteinen⁴.

Neben den bisherigen analytischen Kriterien, wie Unlöslichkeit in Säuren⁵ und Methoxylgehalt⁶, müssen chemische Abbaureaktionen zur Charakterisierung herangezogen werden, um einen Stoff als Lignin bzw. dem nativen Lignin nahestehend, definieren zu können. Dazu dienen außerdem auch physikalische Methoden (z. B. UV- und IR-Spektren).

Botanische Nachweismethoden.

Der Botaniker benützt für die Erkennung der Verholzung meist zwei Gruppen von Färbungen: a) Die *Holzfärbungen* und b) die *Holzfärbreaktionen*. Über die nähere Definierung dieser zwei Gruppen wurde schon ausführlich berichtet⁷. Unter den ersten Begriff wollen wir alle diejenigen Färbemethoden einreihen, die verholztes und unverholztes Gewebe mit Farbstoffen verschieden anfärben. Hierher gehören auch die metachromatischen Farbstoffe⁸. Im wesentlichen werden die auftretenden Kräfte der Farbstofftheorie entsprechen, also Dipolassoziation, H-Brücken, Salzbindung usw. darstellen. Auch gewisse Löslichkeitseigenschaften (hydrophil — lyophil) und Orientierungseffekte (Chlatriate usw.) spielen hier eine Rolle.

Als Holzfärbreaktionen sollen alle diejenigen Reaktionen verstanden werden, die unter chemischer Veränderung des Lignins vor sich gehen: z. B. unter Oxydation (Mäule, Jayme, AuCl_3 , AgNO_3). Wichtig sind diese Holzfärbreaktionen, bei welchen bestimmte Komponenten des Lignins mit an sich ungefärbten Reagenzien reagieren. (Holzreaktion mit Phenol und Aminen.) Hierzu gehört auch die gebräuchlichste, die Wiesnersche Phloroglucinsalzsäurereaktion⁹. Als Ursache dieser wurde schon früher von Czapek¹⁰ und Hoffmeister¹¹, endgültig aber von Adler¹², Kratzl¹³ und Pev¹⁴ das Vorhandensein einer Coniferylaldehydseitenkette nachgewiesen.

Durch Vorbehandlung des Holzes mit gewissen Reagenzien (z. B. H_2 , NaOCl , CH_3N_2 , NaHSO_3 usw.) verschwindet seine Fähigkeit, Farbreaktionen zu geben. Die chemischen Vorgänge an der Coniferylaldehydseitenkette wurden auch an Hand von Modellversuchen geklärt¹⁵.

Die Menge der Coniferylaldehydgruppen im Lignin ist sehr gering (ca. 0,1%)¹². Die zitierten Farbreaktionen erfassen daher nur einen äußerst

kleinen Anteil des Lignins und ihr Ausbleiben namentlich nach chemischer Vorbehandlung kann nicht als Abwesenheit des Lignins gewertet werden. Wenn wir das Lignin (nativ) als aromatisches Polymeres bezeichnen, müssen physikalische und chemische Methoden Verwendung finden, die den Aromaten erfassen lassen.

Chemische Nachweismethoden.

A. Physikalisch-chemische Methoden.

1. Absorption im Ultraviolett.

P. W. Lange¹⁶ konnte zeigen, daß an unveränderten mikroskopischen Schnitten des Holzes, das für aromatische Substanzen einigermaßen charakteristische Absorptionsmaximum bei 2800 Å nachzuweisen ist. Es gelang ihm auch, die Lokalisierung des Lignins in der Mittellamelle durch Ultraviolett-mikroskopie nachzuweisen. Als einzige Stoffe, die hier noch in Frage kämen, wären Polyfurane zu nennen, die aber, wenn überhaupt, kaum in solchen Mengen vorhanden sein könnten, daß sie Lignin vortäuschen. Die Untersuchungen der Absorption in Lösung sind, wenn nicht bei neutralem pH gearbeitet wird, nur mit großer Kritik zu betrachten, da empfindliche Kohlehydrate schon bei sehr milder Einwirkung von Säuren und Alkalien leicht Absorption vortäuschen können, die zu Irrtümern Anlaß gibt¹⁷.

2. Absorption im Ultrarot.

Die Absorption im Ultrarot wurde von Jones¹⁸, Freudenberg¹⁹ und Brauns²⁰ vorwiegend an löslichen Ligninpräparaten untersucht. Wir konnten mit Tschamler²¹ zeigen, daß auch Holzpulver selbst sowie Säurelignin die für Aromaten charakteristischen Absorptionsbanden zeigen (6,3 und 6,6 μ).

Cellulosederivate gaben nur bei aromatischer Substitution (Tritylcellulose) diese Banden²². Bemerkenswert ist, daß ein von uns untersuchtes Polyfurfurol nicht mehr beide Banden zeigte. Es gelang uns auch mit Tschamler und Leutner²³ an von Kisser und Steininger angefertigten 4 μ dicken Holzschnitten (radialen Längsschnitten) besonders scharfe Absorptionsbanden zu erhalten und hier wieder das Vorhandensein von Aromaten nachzuweisen. Eine quantitative Verfolgung der Absorption im Ultrarot würde zur Klärung der alten Diskussionsfrage, wieviel aromatischer Anteil im nativen Holz vorhanden ist, beitragen.

B. Chemische Methoden.

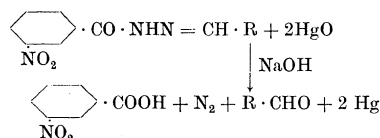
Nachweis der aromatischen Abbauprodukte des Lignins.

1. Oxydation.

Auch chemische Methoden zum Nachweis der aromatischen Struktur stehen zur Verfügung²⁴. Namentlich der oxydative Abbau in alkalischer Lösung mit Nitrobenzol oder mit m-Nitrobenzolsulfosäure, der etwa 30 bis 40% des Lignins als aromatische Aldehyde Vanillin, Syringa- bzw. p-Oxybenzaldehyd fassen läßt, wurde in neuerer Zeit von Stone und Blundell²⁵ im Mikromaßstab durchgeführt und die Aldehyde papierchromatographisch getrennt. Die Einwaage an Holz war etwa 50 mg, an Lignin 10 mg. Die Flecken werden eluiert und aus der Höhe der Absorption im UV die Menge bestimmt, wobei eine Fehlergrenze von 5% angegeben wird. Wir haben diese Methode angewendet, um an besonders schwach verholzten Geweben eine Lignineinlagerung festzustellen. Mußten wir bei früheren Untersuchungen über etiolierte Kartoffelkeimlinge²⁶ noch mit 100 g Ausgangssubstanz arbeiten, um Vanillin als krist. m-Nitrobenzhydrazon zu fassen, so genügt jetzt 1 Keimling. So wurden auch an einem Bohnenkeimling (2 cm lang) alle 3 Aldehyde nachgewiesen. Auch für botanisch-chemische Betrachtungen (z. B. phylogenetische Richtung usw.) wurde diese Methode von uns verwendet⁷. Namentlich bei der Untersuchung radioaktiver Primärlignine, die durch Photoassimilation mit ¹⁴C erhalten wurden, leistet die Methode Bedeutendes²⁷. Allerdings ist hier die papierchromatographische Aufarbeitung weniger geeignet. Wir versuchten mit Silbernagel²⁸, das Vanillin auch bei diesen Ausgangsmengen als krist.

m-Nitrobenzhydrazon zu fassen. Beim Abbau von Fichtenholz (100 mg) oder Säurelignin (30 mg) erhält man so noch 14 mg m-Nitrobenzhydrazon. In einzelnen Fällen wurde mit 10 bis 15 mg Lignin gearbeitet. Aus dem Methoxylgehalt kann auf den Reinheitsgrad der Hydrazone geschlossen werden; er lag meistens über 90%.

Für ^{14}C -markierte Lignine ist es notwendig, diese Abbauprodukte in konstanter spez. Aktivität zu erhalten. Um aus den Hydrazonen die reinen Aldehyde zu erhalten, wurde eine Spaltungsmethode entwickelt, die darauf beruht, die Hydrazone in alkalischer Lösung zu hydrolysieren, wobei die Anwesenheit eines Oxydationsmittels, vor allem Quecksilberoxyd, zur Zerstörung der Hydrazinderivate notwendig ist. Da diese aromatischen Oxyaldehyde gegen alkalische Oxydation relativ unempfindlich sind, konnten diese in hohen Ausbeuten wiedergewonnen werden. Die Spaltung verläuft nach folgendem Schema:



($\text{R} = 3\text{-Oxy-4-methoxyphenyl}$; 4-Oxyphenyl ; $3,5\text{-Dimethoxy-4-oxyphe-nyl}$). Die Menge des wiedergewonnenen Aldehydes war bei Vanillin 98%, bei Syringaaldehyd 96%, bei p-Oxybenzaldehyd 97%. Diese Reinigung ist im Milligramm-Maßstab durchführbar.

Für die allgemeine Spaltung der Aldehydhydrazone eignet sich diese Methode nur dann, wenn Substituenten vorhanden sind, die die Löslichkeit des Hydrazons in Alkali bewirken und wenn die entstehenden freien Aldehyde nicht durch Quecksilberoxyd oxydiert (z. B. m-Nitrobenzaldehyd) oder merkuriiert werden (z. B. 2,4-Dioxybenzaldehyd, o-Vanillin). Die in Freiheit gesetzten Aldehyde können wieder mit m-Nitrobenzhydrazid gefällt werden, bis konstante spez. Aktivität nachweisbar ist. Im Verlauf der Synthesen des Carbonyl- ^{14}C -markierten Vanillins, Syringa- und 4-Oxybenzaldehyds²⁹ war diese Fällung und Spaltungsmethode für die oft nicht einfache Aufarbeitung nach einer Rosenmund-Reduktion mit Erfolg anwendbar. Ferner konnte der bei Glukosidierungen nicht umgesetzte Oxyaldehyd nach diesem Verfahren quantitativ rückgewonnen werden³⁰.

2. Hydrogenolyse.

Bei der Oxydation gehen 2 Atome der Seitenkette des Phenylpropan-systems verloren. Bei der Hochdruckhydrierung hingegen erhält man eine Reihe von Cyclohexylpropanolen³¹ in hoher Ausbeute (40 bis 60%). Diese flüssigen Stoffe müssen durch Feinfractionierungskolonnen getrennt werden. Eine Mikromethode wurde bis jetzt noch nicht entwickelt.

3. Äthanolyse.

Bei der milden Behandlung des Holzes mit 3%iger alkoholischer Salzsäure erhält man nach *Hibbert*³² etwa 10% an definierten aromatischen Oxyketonen, die sog. *Hibbertschen* Bausteine. Beim Gymnospermenlignin sind dies: $\text{R} \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}(\text{OC}_2\text{H}_5) \cdot \text{CH}_3$, $\text{R} \cdot \text{CH}(\text{OC}_2\text{H}_5) \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_3$, $\text{R} \cdot \text{COCOCH}_3$, $\text{R} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO} \cdot \text{CH}_3$ und Vanillin. ($\text{R} = 3\text{-Methoxy-4-oxyphe-nyl}$.) Bei Angiospermen kommen noch analoge Verbindungen mit 3,5-Dimethoxy-4-oxypheylsubstitution hinzu.

Diese Methode stellt die mildeste chemische Einwirkung auf Lignin dar, bei welcher definierte Phenylpropankörper erhalten werden. Die pierchromatographische Methode ausgearbeitet haben, um die *Hibbertschen* Aufarbeitung und Trennung ist mühsam, so daß wir mit *Schweers*³³ eine pa-Bausteine an Holz, bzw. Lignin nachzuweisen. Auch hat *J. A. F. Gardner*³⁴ beim Studium einer Umlagerungsreaktion des α -Oxyconiferylalkohols eine Trennung für diese Reinsubstanzen beschrieben. Mußte man früher mit 250 g Holz arbeiten, so genügen bei unserer Methode 3 bis 5 mg, bei Lignin 1 mg. So war es möglich, an zahlreichen, bisher noch nichtuntersuchten Ligninpräparaten wie auch technischen Produkten, deren „Äthanolysierbarkeit“

zu den definierten Substanzen zu beweisen. Infolge des Mikromaßstabes konnten wir aus einzelnen Zellgewebsbestandteilen, wie z. B. aus der Rinde der Dahlie, diese nachweisen. Das Grundgewebe, das sich der Rinde anschließt, ist von einzelnen verholzten Gefäßen durchzogen (Phloroglucin/HCl-Reaktion). Dieser Anteil gab die Äthanolysenprodukte gerade noch erkennbar. Das zentrale Mark hingegen ist im botanischen Sinne unverholzt, es wurden auch keine Äthanolysenprodukte erhalten.

Das bedeutungsvollste Resultat dieser Untersuchungen war, daß ein enzymatisches Dehydrierungspolymerisat des Coniferylalkohols (DHP), das nach *Freudenberg*¹ dargestellt wurde, die definierten Phenylpropankörper gab. Damit wurde dessen „Ligninähnlichkeit“ auch durch die Äthanolyse bewiesen. Prof. K. *Freudenberg* übersandte uns auch die von ihm erhaltenen Zwischenprodukte I, II, III der biologischen Dehydrierung des Coniferylalkohols (siehe oben). Hier gaben die C—C-kondensierten Dimeren I und II kein, wohl aber III die Äthanolysenprodukte. Damit konnte eine C—C-Kondensation ausgeschlossen und die inzwischen von *Freudenberg*³⁵ definierte Struktur eines β -Coniferyläthers des Guajacylglycerins bekräftigt werden. Für diese Untersuchungen standen nur einige Milligramm zur Verfügung. Dehnt man die papierchromatographische Trennungsmethode der Äthanolyse und des oxydativen Abbaus auf radioaktiv markierte Lignine aus, so kann man je nach Aktivität des eingesetzten Ausgangsmaterials etwa 10^{-3} μ g in den Abbauprodukten fassen.

Zusammenfassung der Nachweismethoden.

Um einen Stoff als Lignin bezeichnen zu können, müssen somit neben den botanischen Färbemethoden (Holzfärbungen und Holzfarbreaktionen) sowohl physikalische als auch chemische Kriterien herangezogen werden. Bei den ersteren erscheint die Ultrarotabsorption bevorzugt. Von den chemischen Methoden wurde der oxydative Abbau und die Äthanolyse im Mikromaßstab ausgebaut. Beide führen zu definierten chemischen Verbindungen, deren quantitative Erfassung notwendig ist. Die bisherigen Kriterien, wie Unlöslichkeit in Säuren, Löslichkeit in Sulfid oder der Methoxylgehalt allein, genügen nicht. Erst das Zusammenwirken aller Methoden läßt die Beantwortung der Frage zu, ob ein Stoff als Lignin bzw. dem nativen Lignin nahestehend zu definieren ist.

Anwendung des mikroanalytischen Ligninnachweises bei einigen technischen Problemen.

Diese mikroanalytischen Methoden wurden von uns bei einigen technischen Problemen verwendet.

Hemicellulosen: Behandelt man Fichtenholz mit 0,1-n Natronlauge 24 Stunden bei Zimmertemperatur, geht vorwiegend ein Teil der Hemicellulosen in Lösung. Diese rohe Hemicellulose enthält 2,2% OCH_3 . Es war nun die Frage zu klären, ob dieses Methoxyl zumindest teilweise dem Lignin zuzuordnen ist. Der oxydative Abbau im Mikroautoklaven gab größere Mengen krist. m-Nitrobenzhydrazon, aus dessen Methoxylgehalt sich errechnen ließ, daß 20% des in der Hemicellulose vorhandenen OCH_3 im Vanillin wiedergefunden wurden⁷. Zum Vergleich sei angeführt, daß derselbe Abbau bei Fichtenholz 33% des im Holz vorhandenen Methoxyl im Vanillin wiederzufinden gestattet. Auch eine Buchenholzhemicellulose ergab beträchtliche Mengen Vanillin-Syringaaldehyd im Verhältnis 1 : 3.

Mit Hilfe des oxydativen Abbaus wurde die chemische Einwirkung von Wasser und Temperatur bei der Herstellung des Kunstholzes Staypak und O. *Runkels* „Thermodynholz“ untersucht³⁶. Bei beiden morphologisch von Holz schon sehr verschiedenen Stoffen konnte von uns der Nachweis erbracht werden, daß trotz Hochtemperatur und Druckbehandlung das Lignin in diesen Hölzern überraschend unverändert ist. Auch technisch gewonnenes Säurelignin der Holzverzuckerung wurde einbezogen. Hier zeigte sich das „neue Rheinalignin“ sowohl beim oxydativen Abbau als auch bei der Äthanolyse dem Salzsäurelignin nach *Willstätter* viel näherstehend, als das „Scholler-Tornesch“-Lignin³⁶.

Überraschend waren die Resultate der Äthanolyse bei einigen anderen technischen Ligninen. Daß aus sog. *Brauns'* Nativlignin³⁷, aus Perjodat-

lignin³⁸ und aus Salzsäurelignin nach Willstätter³⁹ sämtliche Äthanolysenprodukte erhalten wurden, war wahrscheinlich, daß aber auch chemisch sehr weit veränderte Lignine, wie Fichtenligninsulfosäure, aus technischen Kochungen und Alkalilignin die Äthanolysenprodukte gaben, ist interessant³³. Auch das Lignin in Faserplatten, die nach verschiedenen Verfahren hergestellt wurden, gab sowohl bei der Oxydation als auch bei der Äthanolyse die definierten Produkte. Hier hat die Art der Herstellung nur in quantitativer Hinsicht einigen Einfluß.

Die Untersuchung an diesen technischen Produkten kann zwar auch mit Makromengen durchgeführt werden, doch bedingt das Arbeiten im Mikromaßstab nicht nur Gewinn an Zeit (die Äthanolyse z. B. dauert 5 Tage, wobei man gleichzeitig bis 10 Substanzen bearbeiten kann, während die Äthanolyse im Makromaßstab pro Substanz [50.000fache Menge] mehrere Wochen in Anspruch nimmt), sondern für gewisse Probleme auch technischer Natur sind die Mikromethoden notwendig. Neben dem Lignin der Hemicellulosen seien hier noch unpublizierte Versuche aus dem Zellstoffgebiet erwähnt.

Kunstseidenzellstoffe (Lenzing) geben je nach Güte (Aufschlußgrad, Bleiche) kleine Mengen von Säurelignin (*Klason* und *Hägglund, Klason, Halse*). Dieser „Ligningehalt“ dient als Kennzahl und ist bei guten Edzellstoffen sehr gering (0,00 bis 0,05%). *P. Sarten*⁴⁰ hatte eine etwas modifizierte *Halse*-Methode zur quantitativen Erfassung dieses „Lignins“ ausgearbeitet. Es war die Aufgabe, diese „Lignine“ zu untersuchen, ob sie auch konstitutionschemisch dem nativen Lignin des Holzes nahestehen oder ob sie ganz oder teilweise „Humficate“, das heißt, unlösliche, hydrolytische Abbau- und Kondensationsprodukte der Kohlehydrate sind.

Es seien hier nur Versuche mit *A. Graf* an gebleichten Fichtensulfitzellstoffen erwähnt. Das „Lignin“ enthielt 8,9% OCH_3 und nur 0,15% S, höher sulfonierte Anteile waren eventuell bei der Bestimmung nach *Halse* und *Sarten* in Lösung gegangen (*F. E. Brauns*⁴¹). 50 mg wurden oxydativ abgebaut und 12,3 mg Hydrazon erhalten; es war gemäß dem Methoxylgehalt 96,6% reines Vanillin-m-Nitrobenzhydrazon. Berechnet man, wie oben beschrieben, den im Vanillin faßbaren Methoxylgehalt auf das im gesamten „Lignin“ vorhandene Methoxyl, so erhält man 15%. *Halselignin* aus Fichtenholz gab 17%; das heißt, daß sich die im Lignin aus gebleichtem Sulfitzellstoff vorliegenden Methoxylkörper auch in quantitativer Hinsicht dem *Halselignin* gleich verhalten, daß diese also echtes Säurelignin darstellen. Die Äthanolyse, ausgeführt mit 30 mg, ergab alle definierten *Hibbertschen* Bausteine. Dieses Resultat war einigermaßen überraschend, da dieses Lignin bereits mehreren tiefgreifenden chemischen Einflüssen ausgesetzt war (technischer Sulfitaufschluß, Bleiche, *Halse*hydrolyse). Dies eröffnet uns Hinweise über die Stabilität der primären Konstitution, die zu diesen Phenylpropankörpern führt.

Somit wurde an Hand einiger Beispiele aus der Technik gezeigt, daß auch für diese Probleme die mikroanalytischen Methoden nicht nur Zeit und Substanz sparend sind, sondern daß es zahlreiche Probleme gibt, die nur mit diesen bearbeitet werden können. Zur Lösung konstitutionschemischer Ligninprobleme, namentlich in biochemischer und botanischer Richtung stellen diese Methoden die einzige Möglichkeit dar.

Diese Arbeiten wurden von der Österreichischen Gesellschaft für Holzforschung und von der Zellwolle Lenzing AG. unterstützt, wofür auch hier bestens gedankt sei.

Zusammenfassung.

Gymnospermenlignin ist nach *Freudenberg* als enzymatisches Dehydrierungspolymerisat des Coniferylalkohols aufzufassen. Angiospermenlignin als Mischdehydrierungspolymerisat des Sinapin- und Coniferylalkohols, während bei Monocotyledonen noch größere Mengen des p-Oxyphenylbausteins hinzukommen.

Dem botanischen Nachweis, geführt durch Holzfärbungen und Holzfarbreaktionen steht der Nachweis der definierten chemischen Struktur gegenüber. Die Holzfarbreaktionen erfassen nur kleine Teile des Ligninmoleküls, so z. B. die Coniferylaldehydseitenkette.

Von den physikalisch-chemischen Methoden werden die Ultraviolettstudien *P. W. Langes* und die Absorption im Ultrarot diskutiert. Es konnten an Mikroschnitten scharfe Absorptionsbanden aromatischer C—C-Dehnfrequenzen nachgewiesen werden. Von den chemischen Methoden wurde mit *H. Silbernagel* die Oxydation zu Vanillin (30%) im Mikromaßstab durchgeführt und eine Spaltungs- und Reinigungsmethode des *m*-Nitrobenzhydrazon des Vanillins und anderer aromatischer Oxyaldehyde entwickelt. Diese dient namentlich zur Erlangung von Abbauprodukten konstanter spez. Aktivität aus radioaktiven Ligninen. Mit dieser Oxydationsmethode sowie auch dem papierchromatographischen Nachweis aromatischer Oxyaldehyde nach *Stone* und *Blundell* wurden ontogenetische und phylogenetische Reihen des Pflanzensystems untersucht.

Bei der Äthanolyse des Holzes erhält man 10% def. aromatische Oxyketone, bei Gymnospermen die 4 *Hibbertschen* Bausteine. Es wurde eine papierchromatographische Methode ausgearbeitet und zahlreiche Lignine untersucht. Ein nach *Freudenberg* hergestelltes biologisches Dehydrierungspolymerisat des Coniferylalkohols (DHP), sowie nur eines der von *Freudenberg* als Zwischenprodukte der biologischen Kondensation isolierten Dimeren gab diese Äthanolysenprodukte. Bei letzteren war zwischen den C—C-kondensierten und C—O—C-kondensierten Dimeren eine klare Trennung durchzuführen.

Auch technische Produkte, die starken chemischen Einflüssen ausgesetzt waren, wie Alkalilignin und Ligninsulfosäure, gaben die Äthansolysenprodukte. Es ist uns mit *E. Klein* gelungen, die „*Hibbertschen* Bausteine“ aus technischer Sulfitablauge auch in Form von kristallisierten Derivate₁ zu isolieren sowie die Abspaltung der S-funktion bei Modellunter Äthanolysebedingungen nachzuweisen, wenn diese in α -Stellung zum Phenylkern steht.

Einige weitere Anwendungen mikroanalytischer Methoden auf Probleme der Technik werden beschrieben, so der oxydative Abbau von methoxylhaltigen Hemicellulosen, bei denen Vanillin isoliert wurde, der Abbau und die Äthanolyse von Faserplatten, Staypak und Thermodynholz sowie der Holzverzuckerungslignine nach *Rheinau* und *Scholler-Tornesch*. Die Mikromethoden in der Ligninchemie bedingen nicht nur Zeit und Substanzgewinn, sondern sind oft die einzige Möglichkeit, um nicht nur wissenschaftliche, sondern auch technische Probleme zu behandeln, was letzteres besonders bei der Definierung von Säureligninen aus Edlellzellenstoffen bewiesen wird.

Als Zusammenfassung der Nachweismethoden, die im Mikromaßstab erprobt sind und die herangezogen werden müssen, um einen Stoff als Lignin bzw. dem nativen Lignin nahestehend definieren zu können, seien angeführt: Botanische Färbemethoden (Holzfärbung und Holzfarbreaktionen), Absorption in Ultraviolett und Ultrarot. Oxydativer Abbau zu aromatischen Oxyaldehyden, Erfassung von deren Menge und Methoxylbilanz. Äthanolyse zu den definierten *Hibbertschen* Bausteinen sowie eventuell Sulfitierung und Spaltung der gebildeten Ligninsulfosäure zu Vanillin/Acetaldehyd. Die bisherigen Kriterien, wie Unlöslichkeit in Säuren, Methoxylgehalt usw., genügen nicht zur konstitutionschemischen Zuordnung.

Summary.

According to *Freudenberg*, lignin of gymnosperms is to be viewed as enzymatic dehydrogenation polymerizate of coniferyl alcohol. Lignin of angiosperms similarly is a mixed dehydrogenation polymerizate of sinapic and coniferyl alcohol, whereas still larger amounts of the *p*-hydroxyphenyl units are present in the case of monocotyledons.

The botanical identification, by means of wood staining and wood color reactions, is contrasted with the detection of the definite chemical structure. The wood color reactions include only a small part of the lignin molecule, as for instance the coniferyl aldehyde side chain.

Among the physical-chemical methods, the ultraviolet studies by *P. W. Lange* and the absorption in infra red are discussed. Sharp absorption bands of aromatic C=C strain frequencies were observed in micro sections. Among the chemical methods, the author and *H. Silbernagel* studied the oxidation to vanillin (30%) on the microscale, and they developed a fission and purification method for the *m*-nitrobenzhydrazon of vanillin and other aromatic hydroxyaldehydes. This served particularly in arriving at degradation products

of constant specific activity from radioactive lignins. Ontogenetic and phylogenetic series of the plant system were investigated by this oxidation method and also by the paper chromatographic detection of aromatic hydroxyaldehydes by the procedure of *Stone* and *Blundell*.

The ethanolysis of the wood yields 10% of aromatic hydroxyketones, in the case of gymnosperms the four "Hibbert units." A paper chromatographic method was worked out and many lignins studied. These ethanolysis products were yielded by a dehydrogenation polymerizate of coniferyl alcohol (DHP) prepared by *Freudenberg* and also by one of the dimers isolated by *Freudenberg* as intermediate products of the biological condensation. A clear separation was attained in the latter case between the C-C condensed and the C-O-C condensed dimers.

The ethanolysis products, were given likewise by technical products, which have been subjected to powerful chemical influences, such as alkali lignin and lignin sulfonic acid.

Several other applications of microanalytical methods to technical problems were discussed, such as the oxidative degradation of hemicelluloses containing methoxy groups (vanillin was isolated) and the degradation of and ethanolysis of fiberboard, Staypack, and Thermodynholz as well as the wood sugar lignins after *Rheinau*, and *Scholler-Tornesch*. The micromethods in lignin chemistry affect not only time and yields, but also often provide the sole possibility of handling not only scientific but also technical problems. This was demonstrated especially in the defining of acid lignins obtained from refined cellulose.

A summary is given of the detection methods which were tested on the microscale and which must be called on in order to define a material as lignin or as being close to negative lignin. These methods include: botanical staining methods (wood staining and wood color reactions), absorption in ultraviolet and infra red, oxidative degradation to aromatic hydroxyaldehydes, determination of their amount and methoxy balance, ethanolysis to the definite "Hibbert units", and possibly sulfitation and fission of the resulting lignin sulfonic acid to vanillin/acetaldehyde. The previous criteria such as insolubility in acids, methoxyl content etc. are not adequate for constitutional chemical assignment.

Literatur.

- ¹ K. *Freudenberg*, Holz als Roh- u. Werkstoff **11**, 267 (1953).
- ² A. v. *Wack*, Exper. **2**, 171 (1946).
- ³ K. *Freudenberg* und D. *Rasenack*, Ber. dtsh. chem. Ges. **86**, 755 (1953).
- ⁴ R. H. J. *Creighton*, R. D. *Gibbs* und H. *Hibbert*, J. Amer. Chem. Soc. **66**, 32 (1944). F. F. *Nord* und G. de *Stevens*, Naturwiss. **39**, 479 (1952). B. *Leopold* und Mitarb., Acta Chem. Scand. **6**, 38, 39, 311 (1952).
- ⁵ W. *Stumpf* und E. *Wiesener*, Cellulosechem. **18**, 103 (1940).
- ⁶ A. v. *Wack* und D. *Schroth*, Holz als Roh- u. Werkstoff **9**, 7 (1951).
- ⁷ K. *Kratzl*, Holz als Roh- u. Werkstoff **11**, 269 (1953).
- ⁸ Th. A. *Czaja*, Planta **11**, 582 (1930). J. *Kisser*, Mitt. Österr. Ges. Holzforschung **2**, 28 (1949).
- ⁹ J. *Wiesner*, S. B. Wien Akad. Wiss. **77**, 60 (1828). J. *Kisser* und A. *Steininger*, Mikroskopie **5**, 39 (1950).
- ¹⁰ F. *Czapek*, Z. physiol. Chem. **27**, 154 (1899).
- ¹¹ C. *Hoffmeister*, Ber. dtsh. chem. Ges. **60**, 2062 (1927).
- ¹² E. *Adler*, K. J. *Björkquist* und E. *Häggroth*, Acta Chem. Scand. **2**, 93 (1948).
- ¹³ K. *Kratzl*, Mh. Chem. **78**, 173, 392 (1948).
- ¹⁴ J. C. *Pew*, J. Amer. Chem. Soc. **73**, 1678 (1951); **74**, 2850, 5784 (1952).
- ¹⁵ K. *Kratzl* und E. *Wittmann*, Mh. Chem. **85**, 7 (1954).
- ¹⁶ P. W. *Lange*, Svensk Papperstidn **47**, 267 (1944); **48**, 241 (1945); **50**, 130 (1947); **55**, 217 (1953).
- ¹⁷ K. *Kratzl* und H. *Silbernagel*, Mh. Chem. **83**, 1022 (1953). A. W. *Sohns*, Papier **4**, 379 (1950). E. *Pacsu* und L. A. *Hiller*, J. Amer. Chem. Soc. **70**, 523 (1948). B. L. *Scalett* und I. H. *Gardner*, J. Amer. Chem. Soc. **67**, 1934 (1945).
- ¹⁸ E. J. *Jones*, J. Amer. Chem. Soc. **70**, 1984 (1948); TAPPI **32**, 167 (1949).
- ¹⁹ K. *Freudenberg*, W. *Siebert*, W. *Heimberger* und R. *Kraft*, Ber. dtsh. chem. Ges. **84**, 961 (1951).
- ²⁰ F. E. *Brauns* und H. *Seiler*, TAPPI **35**, 67 (1952).
- ²¹ K. *Kratzl* und H. *Tschamler*, Mh. Chem. **83**, 786 (1952).
- ²² L. P. *Kuhn*, Analyt. Chemistry **22**, 276 (1950).
- ²³ H. *Tschamler*, K. *Kratzl*, R. *Leutner*, J. *Kisser* und A. *Steininger*, Mikroskopie **8**, 238 (1953).
- ²⁴ K. *Freudenberg* und W. *Lautsch*, Naturwiss. **27**, 227 (1939). K. *Freudenberg*, W. *Lautsch* und K. *Engler*, Ber. dtsh. chem. Ges. **75**, 857 (1942). W. *Lautsch*, Cellulosechem. **19**, 69 (1941).
- ²⁵ J. E. *Stone* und M. J. *Blundell*, Analyt. Chemistry **23**, 771 (1951).
- ²⁶ K. *Kratzl*, Exper. **6**, 110 (1948).
- ²⁷ J. E. *Stone*, Canad. J. Chem. **31**, 207 (1953). K. *Kratzl*, Abstr. of Papers XIIIth Int. Congress of Pure a. Applied Chemistry, Stockholm 1953, S. 253. St. A. *Brown*, K. G. *Tanner* und J. E. *Stone*, Canad. J. Chem. **31**, 755 (1953).

- ²⁸ H. Silbernagel, Mh. Chem., im Druck.
- ²⁹ K. Kratzl und G. Billek, Mh. Chem. **84**, 406 (1953); Holzforschung **7**, 66 (1953).
- ³⁰ K. Kratzl und G. Billek, Mh. Chem. **85**, 845 (1954).
- ³¹ E. E. Harris und H. Adkins, Paper Trade J. **107**, 20, 38 (1938). E. E. Harris, J. D'Ianni und H. Adkins, J. Amer. Chem. Soc. **60**, 1467 (1938). L. M. Cooke, J. L. McCarthy und H. Hibbert, J. Amer. Chem. Soc. **63**, 3052 (1941).
- ³² A. B. Cramer, M. J. Hunter und H. Hibbert, J. Amer. Chem. Soc. **61**, 509 (1939). L. Brickman, W. L. Hawkins und H. Hibbert, J. Amer. Chem. Soc. **62**, 2149 (1940). Siehe auch F. E. Brauns, The Chemistry of Lignin, New York: Academic Press, 1952, S. 465-479.
- ³³ K. Kratzl und W. Schweers, Mh. Chem. **85**, 1046, 1164 (1954).
- ³⁴ J. A. F. Gardner, Canad. J. Chem. **32**, 532 (1954).
- ³⁵ K. Freudenberg, H. Schlüter und W. Eisenhut, Naturwiss. **41**, 576 (1954).
- ³⁶ K. Kratzl und H. Silbernagel, unveröffentlicht.
- ³⁷ F. E. Brauns, J. Amer. Chem. Soc. **61**, 2130 (1939).
- ³⁸ P. F. Ritchie und C. B. Purves, Pulp a. Paper Mag. Can. **48**, 74 (1947).
- ³⁹ E. Hägglund und H. Richtzenhain, TAPPI **35**, 281 (1952).
- ⁴⁰ P. Sarten, unveröffentlicht.
- ⁴¹ Privatmitteilung.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/7.

Zeilenanzahl: 468.

Queens College, Flushing 67, N.Y.

Bei Präzisionswägungen zu beachtende Vorsichtsmaßnahmen.

Von

A. A. Benedetti-Pichler.

(Eingelangt am 10. Februar 1955.)

Das Geschick wollte es, daß der Autor im Jahre 1920 mit der mikrochemischen Waage von *Kuhlmann* bekannt wurde. Dies hatte zur Folge, daß er sich seither immer wieder veranlaßt sah, die Zuverlässigkeit von Wägungen zu studieren. Die Arbeit war nicht ohne Erfolg und es ist schließlich gelungen, alle wichtigeren Umstände zu erkennen, die beachtet werden müssen, wenn eine Gewichtsbestimmung mit höchster Verlässlichkeit ausgeführt werden soll. Der Vorgang ist an anderen Stellen^{2, 3} mit allen Einzelheiten beschrieben. Da die Zweckdienlichkeit dieser umständlichen und umfangreichen Beschreibung einer so einfachen Operation, wie das Wägen, aber bezweifelt werden könnte, scheint es angezeigt, gewissermaßen als Einleitung, die grundlegenden Gedanken kurz zu besprechen.

Es sei dabei sogleich darauf hingewiesen, daß der Chemiker beinahe immer nur an Gewichtsunterschieden interessiert ist, wobei der zu wägende Apparat fünfmal bis tausendmal schwerer ist als die gesuchte Gewichtsänderung. Aus Notwendigkeit ist es für den Chemiker selbstverständlich geworden, ein kleines Gewicht aus der Differenz zweier großer Gewichte zu bestimmen. Dieser ständige Verstoß gegen eine Grundregel der Meßkunde ist wegen der außerordentlichen Leistungsfähigkeit der Hebelwaage möglich, doch sind oft Schwankungen in den bestimmten Gewichtsunterschieden zu beobachten, die dadurch entstehen, daß man bereits an der Grenze der Leistungsfähigkeit der Waage oder, häufiger, des Wägungsverfahrens angelangt ist. Die meisten Mikroanalytiker werden vermutlich ohne weiteres beistimmen. Es sei aber darauf hingewiesen, daß diese Fehlerquelle auch die Resultate von Makrobestimmungen etwas beeinträchtigen kann.

Ein geübter Arbeiter erhält z. B. bei Ausführung von Parallelbestimmungen einmal die Niederschlagsgewichte 0,6745 g, 0,6744 g und 0,6745 g und ein andermal 0,6451 g, 0,6441 g und 0,6445 g. Man nimmt im allgemeinen an, daß die gute Übereinstimmung in der ersten Reihe von Resultaten dem Zufall zuzuschreiben ist. Es ist aber nicht einzusehen, warum ein geübter Analytiker bei sorgfältiger Arbeit nicht im Stande sein sollte, bei Parallelbestimmungen eine derartige Präzision zu erreichen. Die größere Streuung der zweiten Reihe ist leicht durch Fehler der verwendeten Gewichte zu erklären.

Im folgenden soll gezeigt werden, daß es immer wieder ein Mangel an *Präzision* ist, der für „Wägefehler“ verantwortlich gemacht werden muß, und daß bei richtigem Vorgang, die „Genauigkeit“ der Einzelwägung (besser ihre Unsicherheit) durch die Präzision des Verfahrens bestimmt ist.

Wahl der Waage.

Wenn, wie es in der Mehrzahl der Fälle zutrifft, eine kleine Gewichtsänderung an einem verhältnismäßig schweren Apparat zu bestimmen ist, so kann die kleine Gewichtsunterschied nur mittels einer Hebelwaage mit zufriedenstellender Präzision gefunden werden. Bei der Auswahl der Hebelwaage sind Tragkraft und Präzision der Anzeige ausschlaggebend. Aus praktischen Gründen empfiehlt es sich nicht, eine Waage zu ver-

wenden, deren Präzision weitaus besser ist, als es die vorliegende Aufgabe erfordert, da die weniger präzise Waage in der Regel weniger Aufmerksamkeit erfordert und schnelleres Arbeiten gestattet. So ist u. a. eine gute Analysenwaage einer mikrochemischen Waage vorzuziehen, wenn eine mittlere Abweichung der Anzeige von $\pm 0,02$ mg genügt, wie dies für Bestimmungen im Zentigramm-Maßstab häufig der Fall ist.

Die Leistungsfähigkeit einer Waage ist wesentlich durch die Konstruktion des Balkens und der Lager und die Präzision, mit der man die Lage des Balkens ablesen kann, bestimmt. Die Erhaltung der dem Balken innewohnenden Leistungsfähigkeit ist die Aufgabe der Arretierung⁷. Hilfsgeräte, wie Dämpfung, Kettengewicht und automatische Gewichtsauflage, haben meist einen ungünstigen Einfluß auf die Präzision, so daß Waagen einfacher Konstruktion für Präzisionsarbeit vorzuziehen sind. Ein Reiter hat keinen nachteiligen Einfluß⁸, wenn sein Gewicht das tausendfache der mittleren Schwankung der Instrumentanzeige nicht überschreitet, z. B. 1 mg oder weniger bei einer mikrochemischen Waage ist. Das Reiterlineal soll mit dem Nullstrich nahe der linken Endscheide beginnen und mit Teilstrich 10 nahe der rechten Endscheide enden. Dabei ist es vorteilhaft, wenn an beiden Seiten ein weiterer Teilstrich vorgesehen ist (—1 links und 11 rechts). Zehn (12) Intervalle genügen. Die Reiterverschiebung soll so ausgeführt sein, daß der Reiter mit Sicherheit gehandhabt und mit Leichtigkeit in einer Ebene, die vertikal zur Ebene des Balkens ist, auf den Balken aufgelegt werden kann.

Das Komitee für Waagen und Gewichte der Abteilung für analytische Chemie der amerikanischen chemischen Gesellschaft hat vor kurzem¹ die Merkmale definiert, die zur Beschreibung und Bewertung von Waagen dienen können. Es wäre wünschenswert, wenn diese Definitionen allgemeine Annahme fänden, da zur Zeit eine Verwirrung herrscht, die eine einfache Beschreibung der Merkmale einer Waage unmöglich macht.

*Empfindlichkeit, sensitivity*¹, ist definiert als das Verhältnis von Anzeigeänderung zur Gewichtsänderung. — Es sei hinzugefügt, daß die Empfindlichkeit nicht zur Bewertung der Leistungsfähigkeit einer Waage geeignet ist, da Präzision der Anzeige und Empfindlichkeit nicht in eine einfache Beziehung gebracht worden sind. Es scheint ziemlich sicher, daß bei gegebenem Balken eine übermäßig gesteigerte Empfindlichkeit der Präzision nachteilig ist.

Wert des Teilstriches der Zeigerskala in Gewichtseinheit ist natürlich der Empfindlichkeit reziprok und ist wie diese in der Regel eine Funktion der Belastung.

Belastung ist das Gewicht des zu wägenden Objektes oder, und dies ist das gleiche, das Gewicht der Last auf einer Schale.

Instrumentanzeige, i, sei der beobachtete Ausschlag oder Ruhepunkt des Zeigers multipliziert mit dem Wert des Teilstriches für die herrschende Belastung.

Lehranzeige, i₀, sei die Instrumentanzeige, die mit unbelasteter Waage (mit dem Reiter in der Nullstellung) beobachtet wird.

Präzision der Waage. Dieselbe wird am einfachsten durch die mittlere Schwankung ι_L der Instrumentanzeige i für eine gegebene Belastung L beschrieben. Zur Bestimmung von ι_L wird mit der gewählten Belastung der Ausschlag oder Ruhepunkt wiederholt bestimmt, wobei vor jeder Beobachtung zumindest die Waage völlig arretiert und ausgelöst und der Reiter abgehoben und wieder aufgesetzt wird. Aus den beobachteten Ausschlägen oder Ruhepunkten wird in üblicher Weise die mittlere Schwankung in Teilstrichen der Zeigerskala errechnet. Diese gibt nach Multiplikation mit dem Wert des Teilstriches für die herrschende Belastung die mittlere Schwankung ι_L der Instrumentanzeige.

Über Wert des Teilstriches, Belastung, Instrument- und Leeranzeige wurde noch keine endgültige Entscheidung getroffen. Die Präzision der Waage ist nach Komiteebeschluß der mittlere Fehler einer Wägung in absoluten Einheiten, der wie unten angezeigt aus der mittleren Schwankung der Instrumentanzeige berechnet werden kann. Für die Definitionen von reziproker Empfindlichkeit (*sensitivity reciprocal*), Ablesbarkeit (*readability*) und Milligrammäquivalent der Ablesbarkeit (*milli-*

gram equivalent of readability) sei auf den Bericht verwiesen¹.

Wägungsverfahren.

Beim Arbeiten mit Hebelwaagen benutzt man in der Regel eine Kombination von zwei durchaus verschiedenen Wägungsprinzipien. Der Hauptteil des Gewichtes wird durch Massenvergleich (Ausgleich des Gewichtes des Objekts mit dem Gewicht von Normalmassen) bestimmt. Der verbleibende geringe Gewichtsunterschied wird aus der Verlegung der Ruhelage des Balkens erschlossen: Neigungswägung.

Neigungswägung wird am einfachsten und verlässlichsten ausgeführt, indem man, wie dies *Fritz Pregl* empfohlen hat, den Ausschlag aus den Umkehrpunkten des schwingenden Zeigers berechnet. Hierzu genügt in der Regel und auch bei höchsten Ansprüchen die Beobachtung von 5 aufeinanderfolgenden Umkehrpunkten, von denen die 3 mittleren in einfacher Kopfrechnung ausgewertet werden. Beobachtung des vorangehenden ersten und des letzten Umkehrpunktes gestatten dem Beobachter, sich von der Regelmäßigkeit der Schwingung zu überzeugen. Bei gedämpften (aperiodischen) Waagen liest man einfach den Ruhepunkt des Zeigers ab. Bezüglich Schätzungsfehler sei auf die Untersuchung von *Gysel* hingewiesen².

Zur Eichung der Zeigerskala bestimmt man den Wert des Teilstriches, indem man das Gewicht auf einer Schale um einen genau bekannten Betrag ändert (in der Praxis versetzt man einfach den Reiter) und die dadurch hervorgerufene Änderung in der Ablesung beobachtet. (Es wird zuweilen vergessen, daß es nicht zulässig ist, diese Eichung auszuführen, wenn sich auf einer Schale ein Objekt befindet, das nicht vollkommen gewichtsbeständig ist.)

Verlässliche und genaue Zahlen für den Wert des Teilstriches für häufig vorkommende Belastungen kann man ziemlich mühelos unter Benutzung einer Kontrollkarte erhalten^{1, 2}. Es sei schließlich betont, daß die Anwendung der Neigungswägung nicht nur verlässlichere Resultate gibt, sondern auch schneller ist als vollständiger Massenausgleich bis zur Einstellung der Null-Lage des Zeigers. Dies trifft sogar bei gedämpften Waagen zu, die es gestatten, die Belastung mit einem Kettengewicht zu ändern, ohne die Waage zu arretieren.

Massenvergleich wird fast immer durch Proportionalwägung vorgenommen, da das Hebelarmverhältnis 1.00000 ± 0.00005 (und besser) vom Erzeuger der Waage garantiert ist und die den Chemiker interessierenden Gewichts-differenzen fast niemals mit einer derartigen Genauigkeit bestimmt zu werden brauchen. Es ist dabei natürlich immer vorausgesetzt, daß schwere Apparate immer auf derselben Schale derselben Waage zur Wägung kommen. Dieser Gedankengang zieht jedoch nicht in Betracht, daß *Gauß'sche* Doppelwägung beinahe ohne größeren Arbeitsaufwand wenigstens die doppelte Präzision gibt.

Wenn man bedenkt, daß jede präzise Proportionalwägung für die Nullanzeige $i_0 \pm t_0$ der Waage berichtigt werden muß, so ergeben sich die folgenden mittleren Schwankungen:

$$\text{Proportionalwägung: } \pm \sqrt{t_L^2 + t_0^2} \quad (\approx \pm 1.1 t_L)$$

$$\text{Substitutionswägung: } \pm \sqrt{t_L^2 + t_L^2} = \pm 1.4 t_L$$

$$\text{Doppelwägung: } \pm t_L/1.4$$

*Lindner*³ hat den Experimentalbeweis erbracht, daß sich das Armverhältnis bei einer mikrochemischen Waage ganz merklich mit der Belastung ändert. Gleichgültig ob dies durch Deformation der Schneiden oder des Balkens verursacht ist, es besteht die Möglichkeit, daß Aufhebung der Belastung das ursprüngliche Armverhältnis nicht augenblicklich wieder herstellt. Es wird dann möglich, daß das jeweilige Armverhältnis von dem der Wägung vorangehenden Gebrauch der Waage abhängig wird. Damit könnte sich das scheinbare Gewicht eines Apparates von nur 1 g Gewicht bei Proportionalwägungen leicht um mehrere Mikrogramme ändern und diese Gewichtsänderungen würden Gewichts-differenzen von einigen Milligrammen, die durch wiederholtes Wägen desselben Apparates gefunden werden, sichtlich entstehen.

Gaußsche Doppelwägung macht das Gewicht von dem jeweiligen Hebelarmverhältnis unabhängig, wobei es ganz gleichgültig ist, ob dieses durch die Vorbenutzung der Waage oder durch ein Temperaturgefälle im Waagengehäuse zeitweiligen Änderungen unterliegt. Derartige Umstände mögen dazu beigetragen haben, daß *Conrady*⁶ durch zweifache Anwendung der *Gaußschen Doppelwägung* mit einer zweckmäßig konstruierten Analysenwaage eine Wägungsgenauigkeit von $1 \mu\text{g}$ erreichen konnte. In Versuchen von *Loscalzo*¹² errechnet sich aus zwei Reihen von 300 Wägungen, die theoretisch erwartete Halbierung der mittleren Schwankung der Instrumentanzeige durch *Gaußsche Doppelwägung*. Das Verhalten einer mikrochemischen Waage war dabei weitaus mehr erratisch als das einer Analysenwaage, so daß bei der ersteren in Reihen von 25 Wägungen die Präzision durch *Gaußsche Wägung* in einem Fall unverändert blieb und in anderen Reihen 1,4- bis 7,5mal verbessert wurde.

Jedenfalls muß *Gaußsche Doppelwägung* dringend empfohlen werden, wenn Erreichung höchster Präzision wünschenswert erscheint. Anleitungen für deren einfache Ausführung und rechnerische Auswertung werden an anderer Stelle gegeben^{2, 3}. Praktische Erprobung wird rasch zur Erkenntnis führen, daß der Gewinn an Präzision den kaum merkbaren Mehraufwand an Arbeit weitaus überwiegt. Beim Wägen von Absorptionsapparaten ist es allerdings wünschenswert, daß beide Schalen in gleicher Weise mit Apparatheken so ausgerüstet sind, daß die Übertragung der Apparate von einer Schale zur anderen ohne Schwierigkeit ausgeführt werden kann.

Die Tara.

Unter der Annahme, daß die Masse des zu wägenden Objektes konstant ist, muß die ungeeignete Wahl der Tara als jene Fehlerquelle angesehen werden, die die Präzision von Wägungen am schwersten beeinträchtigen kann.

Gewichte. Die Verwendung von Gewichten von ungeeigneter Qualität, besonders wenn sie zum Austarieren von verhältnismäßig schweren Apparaten verwendet werden, ist besonders bedenklich. Dies trifft sogar dann zu, wenn es sich um Gewichte handelt, die gewissen „Anforderungen der Normaleichungskommission genügen“.

Das *National Bureau of Standards* der Vereinigten Staaten hat im Jahre 1954 die Zulassungsbedingungen für die Prüfung von Gewichtssätzen verschärft, nachdem sich herausgestellt hatte, daß die Erzeuger augenscheinlich keine Schwierigkeit fanden, die Gewichte einiger Klassen merklich genauer zu justieren als von den geltenden Vorschriften gefordert wird. Die neue Verordnung¹⁰ ist von besonderem Interesse, da eine neue Klasse J von Gewichten vorgesehen ist, die für Benutzung mit Mikrowaagen bestimmt ist. Gewichte der Klassen M und J müssen aus einem Stück bestehen; in den anderen Klassen sind Gewichte zugelassen, die aus zwei Teilen (Körper und eingeschraubter Griff) zusammengesetzt sind.

Wenn man die mittlere Abweichung vom Nominalgewicht einem Drittel der zulässigen Höchstabweichung gleichsetzt, so findet man die folgenden mittleren Fehler bei Verwendung von Gewichtssätzen, die den Anforderungen des *National Bureau of Standard* entsprechen. Dabei ist angenommen, daß die Korrekturen zum wahren Gewicht nicht bekannt sind oder nicht angewendet werden.

A. Die Tara besteht aus einem Dekagrammstück, drei Grammstücken, einem Dezigrammstück und drei Zentigrammstücken.

Gewichtsklasse:	Geschätzte mittlere Schwankung:
Frühere Klassen M und S	$\pm 0,1 \text{ mg}$
Frühere Klasse S-2	$\pm 0,45 \text{ mg}$
Neue Klasse M	$\pm 0,05 \text{ mg}$
Neue Klasse S	$\pm 0,04 \text{ mg}$
Neue Klasse S-1	$\pm 0,17 \text{ mg}$

Daraus folgt, daß die Verwendung von derartigen Gewichten selbst die Präzision von Makrobestimmungen beeinträchtigen wird, wenn höchste Anforderungen (Präzision von $\pm 0,02 \text{ mg}$, die mit guten Analysenwaagen

erreichbar ist) gestellt werden. Selbst eine Präzision von $\pm 0,1$ mg kann mit Gewichten der Klassen S-2 und S-1 nicht erreicht werden. Diese letzten zwei Klassen werden allgemein im Unterricht in quantitativer Analyse verwendet und der Autor konnte feststellen, daß Studenten in Wägeübungen mit guterhaltenen, z. T. neuen Gewichtssätzen der Klasse S-2 mit einem mittleren Fehler von $\pm 0,3$ mg rechnen müssen. In Einzelfällen von mehreren hundert Wägungen wurden Fehler von 0,9 bis 1,2 mg beobachtet, wie dies bei einer derartigen mittleren Schwankung auch zu erwarten ist.

B. Die Tara besteht außer dem Reiter nur aus zwei Gewichten der Zentigrammdekade.

Gewichtsklasse:	Geschätzte mittlere Schwankung:
Frühere Klassen M und S	$\pm 12 \mu\text{g}$
Frühere Klasse S-2	$\pm 60 \mu\text{g}$
Neue Klasse J	$\pm 1,5 \mu\text{g}$
Neue Klasse M	$2,5 \mu\text{g}$
Neue Klasse S	$6 \mu\text{g}$
Neue Klasse S-1	$15 \mu\text{g}$

Bei Beschränkung auf die Verwendung einer Dekade ist nur Klasse S-2 für Semimikroarbeit nicht geeignet, aber selbst Gewichte der Klassen J und M können ohne Anbringung von Korrekturen in Mikrobestimmungen nicht verwendet werden, wenn man auf eine Präzision von $\pm 1 \mu\text{g}$ bestehen muß.

Die Schwierigkeit kann durch Eichung der Gewichte und Anbringung der gefundenen Korrekturen zum wahren Gewicht überwunden werden. Wenn die Eichung in geeigneter Weise ausgeführt wird, ergeben sich die Korrekturen c mit einer mittleren Schwankung

$$\gamma = \pm 0,3 i,$$

wobei $i \pm i$ die Instrumentanzeige der Waage ist, mit der die Wägungen und die Eichung vorgenommen werden.

Der bei Wägung mit n Gewichten zu erwartende mittlere Fehler wird dann gleich $\pm 0,3 i / n$. Soll diese Schwankung die Hälfte der dem Wägungsverfahren eigenen Schwankung nicht überschreiten, so folgt:

Proportionalwägung:	Gaußsche Doppelwägung:
$0,3 i / n \leq 0,5 \cdot 1,4 i$	$0,3 i / n \leq 0,5 \cdot 1,4 i$
und $n \geq 5,6$	$n \geq 1,4$

Da man bei einem geeignet untergeteilten Gewichtssatz im Durchschnitt 1,5 Gewichte per Dekade benötigt, ergibt sich, daß man bei Proportionalwägung 3 bis 4 Dekaden von Gewichten verwenden kann, aber sicherlich nicht mehr als eine Dekade bei Gaußschen Doppelwägungen, wenn durch Anbringung der Korrekturen zum wahren Gewicht die dem Wägungsverfahren innewohnende Präzision erhalten werden soll.

Bei mikrochemischer Arbeit wird häufig der Reiter als richtig angenommen und die Gewichte auf den Reiter bezogen. Falls dies aber nicht getan wird, versteht es sich, daß auch die Reiterstellungen entsprechend dem durch Eichung gefundenen wirksamen Gewicht des Reiters korrigiert werden müssen.

Auftriebsschwankungen. Verhältnismäßig schwere Apparate müssen zur Erreichung höchster Präzision der zu bestimmenden Gewichts-differenzen mit Taren von annähernd gleichem Volumen (und vorteilhaft von in Natur und Ausmaß gleicher Oberfläche) ausgeglichen werden. Die Dichte und damit das Gewicht der verdrängten Luft hängt von Druck, Temperatur und Feuchtigkeitsgehalt im Waagengehäuse ab. Selbst wenn Temperatur und Feuchtigkeit im Waagenzimmer durch eine Klimaanlage konstant gehalten werden, folgt der Druck den unberechenbaren, erratischen Barometerschwankungen der freien Atmosphäre. Die mittlere Druckschwankung in einem bestimmten Zeitintervall hängt von der geographischen Lage (am größten in den Tropen und am geringsten in hohen Breiten) und der Jahreszeit ab und kann auch für einen gegebenen Ort nur ungefähr geschätzt werden. Aus den veröffentlichten Tabellen der Bundesstaat-

lichen Wetterstation¹³ errechnet sich für die Stadt New York eine mittlere Schwankung von ± 2 mm für ein Zeitintervall von 6 Stunden und von ± 5 mm Quecksilber für ein Zeitintervall von 24 Stunden. Da das Wetter in New York häufigem, einschneidendem und schnellem Wechsel unterliegt, sind diese Zahlen für mittlere Breiten reichlich groß und eine frühere Schätzung des Verfassers⁴ ist weitaus zu hoch bemessen.

Trotz alledem ergibt sich eine mittlere Gewichtsschwankung von

$$\pm k (V - v) \mu g,$$

wenn $V - v$ der in Milliliter ausgedrückte Volumunterschied zwischen Objekt und Tara ist. Die Konstante k hängt von den Bedingungen im Waagenzimmer und vom Zeitablauf zwischen den Wägungen ab:

Wägungen in Abständen von	6 Stunden:	24 Stunden:
Klimaanlage im Gebrauch:	$k = 3$	5
Keine Klimaanlage:	8	10

Es folgt, daß ein Volumunterschied von 1 ml je nach den Verhältnissen eine mittlere Gewichtsschwankung von 3 bis 10 μg zur Folge haben kann. Dies ist für Halbmikroarbeit noch zulässig. Wenn aber Gewichtsunterschiede mit einem mittleren Fehler von $\pm 1 \mu g$ gefunden werden sollen, so muß der Auftriebsfehler auf $\pm 0,5 \mu g$ und der Volumenunterschied zwischen Apparat und Tara auf 0,17 ml bis 0,05 ml reduziert werden.

Eichung der Gewichte.

Gewichtssätze mit der Unterteilung 1-2-3-5 in den Dekaden sind empfohlen. Der Verfasser ist der Ansicht, daß sich die Mühe nicht lohnt, einen Satz zu eichen, der zwei oder mehrere Stücke von gleichem Wert enthält, da bei Anbringung der Korrekturen zu oft ein Zweifel entsteht, welches Stück tatsächlich auf der Waagschale war. Auch bei der Eichung ist es wünschenswert, daß alle in Verwendung kommenden Gewichte (einschließlich Hilfs- und Bezugsgewichte) auffallend verschieden sind.

Die Eichung der Gewichte muß derart vorgenommen werden, daß die Korrekturen zum wahren Gewicht eine hohe Präzision ($\pm 0,3 t$) erhalten. Da eine Wiederholung der Eichung in angemessenen Zeitabständen erforderlich ist, wird die Ausführung dieser Arbeit durch ein Normaleichamt zuweilen als unbequem empfunden und man mag vorziehen, sie selbst durchzuführen. Dies ist, besonders wenn es sich nur um die Eichung von 1 oder 2 Dekaden handelt (was für chemische Arbeit meist ausreicht), ohne großen Zeit- und Arbeitsaufwand möglich.

Vergleich mit einem geeichten Satz. Der Stück-für-Stück-Vergleich mit den Gewichten eines geeichten Satzes ist ungeeignet, da er selbst bei *Gaußscher* Doppelwägung nicht die gewünschte Präzision der Korrekturen liefert (Mittel aus zwei Doppelwägungen, $\pm 0,5 t$), es sei denn, daß man die Mittel aus je 6 *Gaußschen* Wägungen (12 Proportionalwägungen) benutzt. Es ist selbstverständlich, daß auch der Stück-für-Stück-Vergleich wenigstens zweimal ausgeführt werden muß, womöglich durch zwei verschiedene Personen, um sich gegen Irrtümer zu sichern. Vor allem muß man überdies sicher sein, daß sich der geeichte Satz seit der Eichung nicht geändert hat. Sind die Gewichte der beiden Sätze nicht auffallend verschieden in ihrer Erscheinung, so läuft man außerdem Gefahr, daß Gewichte der beiden Sätze vertauscht werden können.

Verfahren von Richards. Das Verfahren von *Th. W. Richards* ist für die Eichung von 1 oder 2 Dekaden praktisch geeignet, wenn man die an anderer Stelle⁵ aufgezählten Vorsichtsmaßregeln beachtet, wobei besonders wichtig ist, daß man a) die Wägungen und (besonders) die Berechnungen von einer zweiten Person unabhängig wiederholen läßt, b) schließlich das jeweilige Mittel der gefundenen Korrekturen benutzt und c) Sorge trägt, daß Hilfs- und Bezugsgewichte sich auffallend von den Gewichten des Satzes unterscheiden.

Im Handbuch der Mikrochemie³ wird überdies gezeigt, wie sich die Berechnung der Korrekturen vereinfachen läßt und wie sich beim Wägen unterlaufende Irrtümer ausmerzen lassen, bevor man zur Berechnung der Korrekturen schreitet.

Metronomisches Verfahren. In der Meßkunde zieht man vor, jede Dekade für sich zu eichen, wobei man sie gleichzeitig an die nächst höhere und nächst niedere Dekade anschließt. Enthält die Dekade 4 Gewichte, so führt man mit diesen wenigstens 8 Gewichtsvergleiche (durch *Gaußsche* Doppelwägung) aus, z. B.:

$$\begin{array}{rclcl}
 10 & = & 5 + 3 + 2 & + & d_1 \\
 10 & = & 5 + 3 + 1 + s & + & d_2 \\
 10 + s & = & 5 + 3 + 2 + 1 & + & d_3 \\
 5 & = & 3 + 2 & + & d_4 \\
 5 & = & 3 + 1 + s & + & d_5 \\
 5 + s & = & 3 + 2 + 1 & + & d_6 \\
 3 & = & 2 + 1 & + & d_7 \\
 3 & = & 2 + s & + & d_8 \\
 2 & = & 1 + s & & \text{usw.} \\
 1 & = & s & & \text{wobei } s = 0,5 + 0,3 + 0,2.
 \end{array}$$

Gleichzeitige Lösung der Gleichungen und Anwendung des Prinzips der kleinsten Fehlerquadrate gibt die Korrekturen zum wahren scheinbaren Gewicht der einzelnen Stücke. Die Berechnung wird am besten in Tabellenform durchgeführt, wobei es möglich ist, wiederholt durch einfache Proben die Abwesenheit von Irrtümern nachzuweisen. Zweckmäßige Anleitungen für die einfache Ausführung dieser Rechnungen sind in der chemischen Literatur scheinbar nicht zu finden und man wird sich im allgemeinen an Normaleichämter um Rat wenden müssen. Die von der *Mass Section* des *National Bureau of Standards* der Vereinigten Staaten für die Unterteilung 1-2-3-5 ausgearbeiteten Tabellen und Prüfverfahren sind jedoch vom Verfasser beschrieben worden².

Zusammenfassung.

Zur Erreichung höchster Präzision in der Bestimmung von Gewichtsänderungen mit einer gegebenen Waage beachte man die folgenden Punkte: 1. Das Gewicht des Objektes wird mit geeigneten Taren und Gewichten beinahe ausgeglichen und der verbleibende Gewichtsunterschied durch Neigungswägung bestimmt. 2. *Gaußsche* Doppelwägung halbiert die mittlere Schwankung der für die Nullanzeige korrigierten Proportionalwägung. 3. Geeichte Gewichte werden in zweckmäßig beschränkter Anzahl verwendet und ihre Korrekturen zum wahren Gewicht angewendet. Ihre Korrekturen zum wahren Gewicht werden durch ein geeignetes Eichverfahren bestimmt. 4. Taren werden so gewählt, daß ihr Volumen dem des Objektes nahezu gleich ist. 5. Die Waage wird mit einem Reiter versehen, dessen Gewicht das Tausendfache der mittleren Schwankung der Instrumentanzeige nicht übertrifft. 6. Die Neigungswägung wird am besten so ausgeführt, daß man den Ausschlag des Zeigers aus den Umkehrpunkten des schwingenden Zeigers berechnet. Dabei benutzt man jene Reiterstellung, die eine Instrumentanzeige gibt, die sechs Zehntel des von einem Teilstriches des Reiterlineals angezeigten Gewichtes nicht überschreitet.

Befolgung der Ratschläge gibt ohne merklichen Mehraufwand an Arbeit die höchste Präzision, die mit einer gegebenen Waage erreicht werden kann.

Summary.

The following rules are recommended for the attainment of the highest precision inherent in a given balance. (1) The weight of the object is nearly completely counterbalanced with suitable tares and weights, and the remaining difference of weight is computed from the equilibrium position of the beam. (2) *Gauss'* transposition weighing should be used in preference to direct weighing since this practically halves the standard deviation of the observed weight. (3) Calibrated weights should be used in properly limited number, and the corrections to true weight should be applied. The latter must be determined by a suitable calibration procedure. (4) Tares are selected so that their volume is practically equal to that of the object. (5) The balance shall be provided with a rider, the weight of which does not exceed by more than one thousand times the standard deviation of the instrument indication. (6) The weighing itself is best performed by computing the deflection from the points of reversal of the swinging pointer. A rider position should be used which gives an instrument indication (deflection times the value of

the division of the pointer scale) which does not exceed six tenths of the weight indicated by one division of the rider scale.

The recommended procedure gives in a simple and efficient manner the highest precision of which the balance is capable.

Literatur.

- ¹ American Chemical Society, Division of Analytical Chemistry, Committee on Balances and Weights, *Analyt. Chemistry* **26**, 1190 (1954).
- ² A. A. Benedetti-Pichler, *Quantitative Analysis*, Manuskript.
- ³ A. A. Benedetti-Pichler in *Handbuch der mikrochemischen Methoden*. Herausgeg. v. F. Hecht und M. K. Zacherl. Wien: Springer-Verlag, in Vorbereitung.
- ⁴ A. A. Benedetti-Pichler, *Mikrochem.* **34**, 153 (1949).
- ⁵ A. A. Benedetti-Pichler, *Mikrochem.* **34**, 241 (1949).
- ⁶ A. E. Conrady, *Proc. Roy. Soc. London* **101A**, 211 (1922).
- ⁷ A. H. Corwin, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **16**, 258 (1944).
- ⁸ W. Felgenträger, *Feine Waagen, Wägungen und Gewichte*, 2. Aufl. Berlin: J. Springer, 1932.
- ⁹ H. Gysel, *Mikrochim. Acta* (Wien) **1953**, 266.
- ¹⁰ T. W. Lashof und L. B. Macurdy, National Bureau of Standards Circular 547, Section I (Aug. 20, 1954).
- ¹¹ J. Lindner, *Mikrochem.* **34**, 67 (1949).
- ¹² Anne G. Loscalzo und A. A. Benedetti-Pichler, *Mikrochem.* **40**, 232 (1953).
- ¹³ United States Department of Commerce, Weather Bureau, 17 Battery Place, New York, N. Y., Local Climatological Data.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/8.

Zeilenanzahl: 435.

Research Department, British Nylon Spinners Ltd., Pontypool, Monmouthshire, Great Britain.

The Spectrophotometric Determination of Secondary Aliphatic Amines.

By

S. J. Clark and D. J. Morgan.

(Received March 14, 1955.)

Two reactions are known which appear to be sufficiently sensitive for the micro-determination of secondary aliphatic amines in the presence of primary and tertiary groups: reaction with carbon disulphide to form the dithiocarbamate, and reaction with nitrous acid to form the nitrosamine. None of the published procedures¹⁻³ using the dithiocarbamate reaction seemed suitable for our purpose which necessitated using a highly acid medium and only the nitrous acid reaction was investigated. Two methods exploiting this reaction have been reported recently, both of which are confined to the determination of dimethylamine. In the method of *Smales and Wilson*⁴, the N-nitrosodimethylamine formed by the reaction is separated by steam distillation and determined polarographically. *English*⁵ eliminated the steam distillation stage but found it necessary to remove nitromethane, formed by a side reaction of primary methylamine with nitrous acid, by selective reduction with sodium dithionite at a carefully controlled pH.

This method has given satisfactory results in our hands but sodium dithionite available commercially contains sufficient impurity to cause serious interference in the polarographic determination of the nitrosamine. The purification of dithionite is extremely tedious and, accordingly, an alternative method was sought for the determination of the nitrosamine.

Smales and Wilson also examined an absorptiometric method but reported erratic results which they ascribed to the presence of traces of nitrite. Moreover, they were unable to exploit fully the sensitivity of the method owing to the limitations of the absorptiometer employed. Using a somewhat different procedure, we have developed a rapid semi-micro method which we have extended to amines other than dimethylamine.

The Spectra of the Aliphatic Nitrosamines.

The spectra of the aliphatic nitrosamines exhibit two absorption maxima in the ultra-violet. A low intensity maximum ($\epsilon_{\max}$ 90 to 100) occurs at 330 to 365 m μ and a high intensity maximum ($\epsilon_{\max}$ 6000 to 7000) at about 230 m μ . The low intensity maximum exhibits a marked shift to longer wavelengths together with loss of fine structure as the solvent becomes more polar and, at the same time, the intensity decreases somewhat. The position of the high intensity maximum is unaffected by the nature of the solvent although its intensity increases with increasing solvent polarity. There is little difference between the spectra of the homologous series dimethyl- to di-n-hexylnitrosamine.

For our purpose, the spectra in water, aqueous ethanol, ether and n-hexane are of interest and values for molar extinction coefficient and peak wavelength are given in Table I. The matter is discussed in more detail by *Haszeldine and Jander*⁶. It should be noted that our value for $\epsilon_{\max}$ for dimethylnitrosamine in water ($\lambda_{\max}$ 332; $\epsilon_{\max}$ 99) differs from that obtained by *Kortüm*⁷ ($\lambda_{\max}$ 333; $\epsilon_{\max}$ 72.5). However, our value is consistent with the analytical results. The results in Table I agree well with those obtained by *Haszeldine and Jander*.

Table 1. Ultra-violet Spectra.

Compound	Solvent	$\lambda_{\max}$	$\epsilon_{\max}$
Dimethylnitrosamine	Water	332	99
	40% ethanol	336	100
	Ether	230	6250
	n-Hexane	232	5875
Diethylnitrosamine	40% ethanol	345	90
	n-Hexane	232	6450
Di-n-propylnitrosamine	40% ethanol	345	90
	n-Hexane	235	6100
Di-n-butylnitrosamine	40% ethanol	344	90
	n-Hexane	235	6000
Di-n-amylnitrosamine	40% ethanol	345	93
	n-Hexane	236	6300
Di-n-hexylnitrosamine	40% ethanol	345	95
	n-Hexane	236	6200
Dicyclohexylnitrosamine	45% ethanol	354	76
	70% ethanol	356	78
	n-Hexane	240	6220

Without exception, *Beer's* law is obeyed over the concentration range 2×10^{-5} M. to 2×10^{-2} M. in all solvents.

Nitrosation Conditions.

In general, the method of nitrosation follows that of *English*. The amine or amine hydrochloride is dissolved in aqueous acetic acid and an excess of a saturated solution of sodium nitrite is added. When reaction is complete, excess nitrite is destroyed by reaction with sulphamic acid. After nitrosation, the solution is made up to a definite volume and the optical density measured.

The reaction conditions specified in the experimental section are suitable for the range 0.1 to 1.0 milli-equivalent of secondary amine. By suitable adjustment of reagent concentrations and reaction volume, the lower limit may be extended to 0.01 milli-equivalent.

Sodium nitrite concentration.

For complete reaction, about a tenfold excess of sodium nitrite is required. Furthermore, it is obvious that nitrite concentration will affect the rate of reaction: it was found that the minimum concentration necessary to ensure complete reaction within about 20 minutes is approximately 0.6 M. The results shown in Tables 2 and 3 were obtained using dimethylamine but the same conditions apply to the other members of the series.

Table 2. Effect of Excess Sodium Nitrite.

NaNO ₂ added (meq)	Amine present (meq)	Amine found (meq)
5.9	2.210	1.940
5.9	1.324	1.226
5.9	0.883	0.833
5.9	0.442	0.438
5.9	0.221	0.217
5.9	0.110	0.110

Reaction time: 20 min.; reaction volume: 5 ml.

Nitrite concentration: ca. 1.2 M.

In practice, considerably more than the minimum amount of sodium nitrite is used and for the range 0.1 to 1.0 milli-equivalent of amine, 3 g of sodium nitrite are added (5 ml of a saturated solution) and the volume of the reaction mixture is maintained at 12 to 15 ml. In 50%

aqueous acetic acid at 25° C the reaction is then complete in less than 5 minutes (Table 4).

Table 3. Effect of Nitrite Concentration.

Nitrite concn. (M.)	Reaction time (min.)	Amine present (meq)	Amine found (meq)
0.59	20	0.442	0.440
0.29	20	0.442	0.324
0.20	20	0.442	0.250
0.12	20	0.442	0.132
0.29	60	0.442	0.428
0.20	60	0.442	0.344
0.12	60	0.442	0.180

5.9 meq of sodium nitrite were added in each experiment.

Table 4. Reaction Time.

Time (min.)	Amine present (meq)	Amine found (meq)
5	0.251	0.250
10	0.251	0.250
15	0.251	0.251
30	0.251	0.251
60	0.251	0.250

Amine: di-n-amylamine.

Temperature.

The nitrosation of dimethylamine is almost unaffected by temperature in the range 0 to 30° C whereas, for the other members of the series, low recoveries occur at 0° C. However, over the range 20 to 30° C, consistent results are obtained (Table 5). The blank is unaffected by temperature changes.

Table 5. Temperature.

Compound	Amine present (meq)	Amine found (meq)			
		0° C	20° C	25° C	30° C
Dimethylamine	0.442	0.438		0.440	
Di-n-propylamine	0.433	0.360	0.429	0.430	0.432
Dicyclohexylamine	0.221	0.135	0.218	0.220	0.220

Solvent.

The reaction is carried out in 50% aqueous acetic acid but since the higher nitrosamines are insoluble in water it is necessary to add ethanol to the reaction mixture before optical density measurements can be made. Sufficient ethanol is added to give a final concentration of 40% v/v. At higher ethanol concentrations, sodium nitrate is precipitated and even in 40% ethanol, sodium sulphate, derived from sulphamic acid, occasionally crystallises out. To ensure that this does not occur during spectrophotometric measurements a crystal of sodium sulphate is added to induce crystallisation after making the solution up to volume.

Blank.

The optical density at 335 to 345 $m\mu$ of a blank solution is appreciable and the solution exhibits a featureless spectrum with a broad maximum at 300 $m\mu$. This absorption was shown to be due to nitrate ion which is present to the extent of 25 to 30% of the weight of nitrite added initially. It is assumed that some of the nitrate is added as an impurity in the sodium nitrite and that the remainder is formed by spontaneous decomposition of nitrous acid. The yield of nitrate is almost unaffected by changes in reaction conditions and all attempts to remove it have proved unsuccessful.

Measurements of the optical density at 300 $m\mu$ of a blank solution show that the blank increases slowly with time (Table 6). This increase

is undetectable at 345 $m\mu$ and hence errors in timing have no effect on the accuracy of determination.

The effect of the nitrate absorption is minimised firstly by measuring optical density against a blank run with each series of determinations and secondly by using a 40% ethanolic medium. The addition of ethanol shifts the nitrosamine peak to longer wavelengths whereas the nitrate spectrum is unaffected and consequently the residual absorption due to nitrate ion is reduced.

Slight variations in the blank set a lower limit to the concentration of nitrosamine that can be measured with reasonable precision. This limit corresponds to 0.05 to 0.10 milli-equivalent of secondary amine using the reaction conditions described in the experimental section.

Stability of nitrosamine solutions.

Solutions of nitrosamine are stable for at least 6 hours, no change in optical density being detected after this time.

Calibration Curve.

In the series diethylamine to di-n-hexylamine yields of the corresponding nitrosamine decrease slightly as molecular weight increases. This is compensated for, however, by a slight increase in extinction coefficient so that a single calibration curve may be used for the determination of any member of the series without introducing a serious error. Although the peak wavelength for dimethylnitrosamine is 336 $m\mu$ and $\epsilon_{\max}$ is approximately 10% greater than for the other members of the series, it is more convenient to make measurements at 345 $m\mu$ ($\epsilon = 89$) so that the same calibration curve may be used for dimethylamine also.

The spectrum of dicyclohexylnitrosamine is sufficiently different to necessitate a separate calibration curve for dicyclohexylamine. Moreover, the nitrosamine is only partially soluble in 40% ethanol and it is necessary to increase the alcohol content of the solution to at least 45% and preferably to approximately 70%. The results shown in Table 7 were obtained

Table 7.

Compound	Amine present (meq)	Amine found (meq)	Error	
			meq	%
Dimethylamine	0.221	0.227	+ 0.006	+ 2.7
	0.884	0.867	- 0.017	- 1.9
	2.210	2.117	- 0.090	- 4.2
Diethylamine	0.173	0.167	- 0.006	- 3.5
	0.693	0.667	- 0.026	- 3.7
	1.734	1.685	- 0.049	- 2.8
Di-n-propylamine	0.109	0.105	- 0.004	- 3.7
	0.436	0.417	- 0.019	- 4.4
	1.082	1.070	- 0.012	- 1.1
Di-n-butylamine	0.084	0.084	0	0
	0.338	0.343	+ 0.005	+ 1.5
	0.819	0.868	+ 0.049	+ 5.9
Di-n-amylamine	0.061	0.067	+ 0.006	+ 9.8
	0.235	0.243	+ 0.008	+ 3.4
	0.611	0.620	+ 0.009	+ 1.5
Di-n-hexylamine	0.044	0.045	+ 0.001	+ 2.3
	0.171	0.184	+ 0.013	+ 7.6
	0.443	0.458	+ 0.015	+ 3.4
Dicyclohexylamine	0.055	0.053	- 0.002	- 3.6
	0.220	0.219	- 0.001	- 0.5
	0.551	0.553	+ 0.002	+ 0.3

using di-n-propylamine as the standard compound. Dicyclohexylamine was determined using a separate calibration curve.

Interferences.

Primary amines.

Primary amines were expected to interfere in the determination since *English* had reported the formation of nitroparaffins. Optical density measurements showed that if nitroparaffins are in fact reaction products, then the primary amine is almost completely converted to the corresponding primary nitroparaffin, which seems to be extremely unlikely. An alternative explanation is that some other compound is formed which absorbs very strongly in the region 270 to 280 $m\mu$. This suggests a molecule containing at least two chromophoric groups of the $-\text{NO}_2$ type and one obvious possibility is the formation of a nitrolic acid. Comparison of the spectra of the products of reaction between nitrous acid and primary amine and between nitrous acid and the corresponding nitroparaffin, together with the behaviour of the spectra with change in pH of the solution, demonstrated that a nitrolic acid is formed by both reactions. The yield of nitrolic acid appears to be constant for a given set of reaction conditions and the reaction is being examined as a possible method for the determination of primary amines.

The removal of this interference by reduction with sodium dithionite, as in the method of *English*, was found to be impossible since dithionite and its reaction products absorb strongly at 345 $m\mu$. No other reaction was found which results in the removal of the interfering species but interference from this source is allowed for by the conventional method of measuring optical density at two wavelengths, setting up and solving simultaneous equations for the concentration of secondary amine.

Choice of wavelengths.

The solutions of the simultaneous equations relating the optical densities at two wavelengths for mixtures of any two absorbing species are:

$$c_1 = \frac{a_2'' A' - a_2' A''}{a_2'' a_1' - a_2' a_1''}$$

$$c_2 = \frac{a_1' A'' - a_1'' A'}{a_2'' a_1' - a_2' a_1''}$$

where c_1, c_2 = Concentrations of species 1 and 2,
 a_1', a_1'', a_2', a_2'' = Extinction coefficients of 1 and 2 at
wavelengths λ' and λ'' ,
 A', A'' = Optical densities of mixture at
wavelengths λ' and λ'' .

For maximum accuracy in the determination of $c_1, a_2' \ll a_2''$
whereas for maximum accuracy in the determination of $c_2, a_1' \gg a_1''$.

If c_1 = concentration of nitrolic acid,

c_2 = concentration of nitrosamine,

then both conditions are satisfied by making $\lambda' = 300 m\mu$; $\lambda'' = 345 m\mu$. These wavelengths correspond approximately to a minimum and a maximum in the combined spectrum of the two compounds. 300 $m\mu$ also corresponds to a maximum in the spectral curve of a blank solution so that some loss in precision occurs when primary amines are present. From this standpoint, it would be desirable to choose λ' to correspond to a minimum in the blank spectrum (e. g. 265 $m\mu$) but this is only possible for the lower primary amines. As the series is ascended, the high intensity absorption in the nitrolic spectrum shifts to longer wavelengths and the optical density at 265 $m\mu$ becomes too great to be measured.

When primary amine is present the reaction conditions, particularly reaction time, must be rigidly standardised so that variations in the blank are minimised.

Under constant reaction conditions, it is assumed that the yield of nitrolic acid is directly proportional to the amount of primary amine present. The extinction coefficients a_1', a_1'' are related directly to the primary amine by conducting a blank experiment with secondary amine absent. The assumption appears to be justified in practice and a tenfold excess of primary amine causes no appreciable error in the determination.

In the presence of larger amounts of primary amine the yield of nitrosamine decreases since there is no longer a sufficient excess of sodium nitrite.

There is no reason, however, why the nitrite concentration should not be increased if necessary. Table 8 gives some typical results.

Table 8.

Compound	Primary amine present (meq)	Dimethylamine present (meq)	Dimethylamine found (meq)
Methylamine	2.693	0.221	0.218
Ethylamine	2.980	0.221	0.225
n-Butylamine	2.316	0.221	0.221
n-Heptylamine	1.650	0.221	0.217

Since the spectra of the homologous nitrolic acids differ, it is necessary to identify the particular primary amine present. This can usually be done by an examination of the spectrum of the reaction products.

Tertiary amines.

A small amount of nitrosamine is formed by reaction of nitrous acid with a tertiary amine but the yield is so small that at least a thirtyfold excess of tertiary amine is permissible before errors due to this source become apparent.

Experimental.

Reagents:

Sodium nitrite solution: A saturated solution (ca. 60% w/v).

Acetic acid: Glacial.

Sulphamic acid solution: A 20% (w/v) aqueous solution.

Ethanol: Absolute, benzene-free.

Sodium sulphate:

All reagents are "AnalaR" grade except where otherwise stated.

Apparatus:

A Unicam S.P.500 spectrophotometer equipped with 1-cm quartz cells was used throughout the experimental work.

Procedure:

The sample, containing 0.1 to 1.0 milli-equivalent of secondary amine, is weighed in a weighing stick and transferred to a 100 ml tall-form beaker. 7 to 8 ml of glacial acetic acid are added from a graduated pipette and the liquid is swirled to dissolve the sample. The beaker is placed in a water bath maintained at $25 \pm 5^\circ\text{C}$ and 5 ml of saturated sodium nitrite solution are added from a pipette. After mixing the solution, the beaker is allowed to stand in the water bath for 10 to 15 min. and is then half-immersed in an ice-water mixture. Sulphamic acid solution is added slowly from a burette with vigorous stirring until evolution of nitrogen and nitrogen oxides ceases, when a further 2 ml of sulphamic acid solution are added. Usually, about 14 ml of sulphamic acid solution are required. The reaction mixture is transferred to a 100-ml volumetric flask which is then shaken vigorously to expel as much dissolved nitrogen as possible. The beaker is washed with several 5-ml portions of distilled water followed by 40 ml of absolute alcohol and the washings are transferred to the volumetric flask. The volume of the solution is made up to 100 ml with distilled water and the contents of the flask are thoroughly mixed. The solution is settled by the addition of a crystal of sodium sulphate and the solution allowed to stand until the supernatant liquid is clear. A portion of the solution is transferred to a quartz spectrophotometer cell and the optical density at $345\text{ m}\mu$ is measured against a blank solution. The concentration of amine is determined by reference to a calibration curve. If primary amine is present a second measurement is made at $300\text{ m}\mu$ and the concentration of secondary amine calculated.

Acknowledgement.

Thanks are due to British Nylon Spinners Ltd. for permission to publish this work.

Summary.

Reaction with nitrous acid provides a convenient means of determining secondary aliphatic amines. Reaction conditions have been investigated for several amines and it has been shown that reaction is rapid and that yields of nitrosamines are high and reproducible. Reaction conditions are not critical.

The configuration of the amine molecule affects both the yield of nitrosamine and its ultra-violet spectrum but this effect is sufficiently small to be ignored for the series dimethylamine to di-n-hexylamine.

A spectrophotometric method is described which is suitable for amounts of amines in the range 0.1 to 1.0 milli-equivalent. The lower limit may be extended to 0.01 milli-equivalent by changing the reaction conditions. A single determination requires approximately 45 min. and up to six parallel determinations may be completed in 2 to 2½ hours. An accuracy of approximately 3% is obtainable without special precautions.

Primary aliphatic amines interfere through the formation of nitrolic acids but may be allowed for by calculation from optical density measurements at two wavelengths. Tertiary amines form very small amounts of nitrosamine but a large excess of tertiary amine can be tolerated before interference becomes serious.

Zusammenfassung.

Die Reaktion mit salpetriger Säure eignet sich zur Bestimmung sekundärer Amine. Die Versuchsbedingungen wurden bei einigen Aminen untersucht. Dabei wurde festgestellt, daß die Reaktion rasch verläuft und daß hohe und reproduzierbare Ausbeuten an Nitrosaminen erhalten werden. Die Reaktionsbedingungen brauchen nicht besonders genau eingehalten zu werden.

Die Konfiguration des Amins beeinflusst die Ausbeute an Nitrosamin und dessen UV-Spektrum, aber dieser Einfluß ist so gering, daß er vom Dimethylamin bis zum Di-n-hexylamin außer Betracht bleiben kann.

Eine spektrophotometrische Methode wird beschrieben, die sich für 0,1 bis 1,0 Milliäquivalente Amin eignet. Die untere Grenze läßt sich durch Änderung der Reaktionsbedingungen bis auf 0,01 Milliäquivalente herabsetzen. Eine Einzelbestimmung dauert etwa 45 Minuten, bis zu 6 Parallelbestimmungen lassen sich in 2 bis 2½ Stunden ausführen. Ohne besondere Vorsichtsmaßregeln läßt sich eine Genauigkeit von etwa 3% erzielen.

Primäre aliphatische Amine stören durch Bildung von Nitrolsäuren, aber dieser Fehler läßt sich durch Messung der optischen Dichte bei zweierlei Wellenlängen ausschalten. Tertiäre Amine bilden sehr geringe Mengen Nitrosamin. Daher ist auch ein großer Überschuß an tertiären Aminen zu tolerieren, ehe eine ernstliche Störung eintritt.

References.

- ¹ H. C. Dowden, *Biochemic. J.* **32**, 455 (1938).
- ² E. L. Stanley, H. Baum and J. L. Gove, *Analyt. Chemistry* **23**, 1779 (1951).
- ³ L. Nebbia and F. Guerrieri, *Chim. e ind.* **35**, 896 (1953).
- ⁴ A. A. Smales and H. N. Wilson, *J. Soc. Chem. Ind.* **67**, 210 (1948).
- ⁵ F. L. English, *Analyt. Chemistry* **23**, 344 (1951).
- ⁶ R. N. Haszeldine and J. Jander, *J. Chem. Soc. London* **1954**, 691.
- ⁷ G. Kortüm, *Z. physik. Chem.* **50 B**, 361 (1941); *Z. Elektrochem.* **47**, 55 (1941).

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/9.

Zeilenanzahl: 736.

Aus dem Biochemischen Forschungslaboratorium der Aschaffener
Zellstoffwerke A. G., Stockstadt a. M.

Zur chromatographischen Trennung der Vitamine der B₁₂-Gruppe.

2. Mitteilung*.

* 1. Mitteil. vgl. Note 1.

Der Einfluß von Anionen auf die Trennung der Vitamine der B₁₂-Gruppe auf Zellulose im Entwicklersystem
sec. Butanol-Wasser.

Von

Wilhelm Friedrich, Gisela Groß und Konrad Bernhauer.

Mit 4 Abbildungen.

(Eingelangt am 8. März 1955)

Wie wir kürzlich berichteten, läßt sich die Trennung von Vitaminen der B₁₂-Gruppe in der Zellulosepulver-Säule sowie im Papierchromatogramm durch Kaliumperchlorat beträchtlich verbessern¹. Die weiteren Untersuchungen zeigten, daß auch eine Reihe anderer Salze ähnlich wie Kaliumperchlorat wirken. Es handelt sich dabei vor allem um die Natrium- bzw. Kaliumsalze starker einbasischer mehratomiger Säuren, während Salze schwacher oder mehrbasischer Säuren, wie auch Salze der einfachsten Säuren (z. B. NaCl) diesen Effekt nicht ausüben. Wir schlagen vor, die günstige Beeinflussung der chromatographischen Trennung als „chromatotropen“ Effekt, bzw. Salze, die diese Erscheinung verursachen, als „chromatotrop“ zu bezeichnen. Besonders bemerkenswert ist, daß jene chromatotropen Salze, die Lösungsvermittler sind (z. B. Alkalisalze der Perchlorsäure, Camphersulfonsäure und Trichloressigsäure sowie Na-Tetraphenylborat), in der Papierchromatographie stark salzhaltiger Proben der B₁₂-Vitamine wertvolle Dienste leisten, indem sie solche Salzstörungen völlig bzw. größtenteils beseitigen.

Die chromatotropen Salze können je nach ihrer Konzentration im Entwickler die Wanderung der B₁₂-Faktoren während der Chromatographie sowohl verlangsamen als auch beschleunigen. Diese Effekte könnten evtl. durch die Annahme gedeutet werden, daß Komplexe bzw. Aggregate² zwischen den B₁₂-Vitaminen und den betreffenden Anionen entstehen, die dann ihre eigenen R- bzw. R_f-Werte haben oder daß in Gegenwart der betreffenden Anionen das Adsorptionsmittel (Zellulose) verändert wird. Eine weitere Erklärungsmöglichkeit bietet die Vorstellung, daß das System Zellulose + Entwickler eine halbdurchlässige Membran darstellt, durch die die B₁₂-Arten während der Chromatographie diffundieren müssen. Versuche in Diffusionskammern, in denen beiderseits einer semipermeablen Zellulosemembran sich der gleiche Entwickler mit einem chromatotropen Salz in gleicher Konzentration befanden, zeigten tatsächlich, daß die Diffusionsgeschwindigkeit der B₁₂-Vitamine durch die Membran von der Salzkonzentration abhängt, und zwar in ähnlichem Maß wie die R_f-Werte in der Papierchromatographie.

Methodik und Ergebnisse.

Säulenchromatographie von B₁₂-Vitaminen unter Verwendung verschiedener Salze im Entwickler.

Die Säulen wurden wie bereits beschrieben bereit¹ (Säulendurchmesser 1,15 cm, Schichthöhe der Zellulose etwa 8 cm). Die zu chromatographierende Substanz wurde in Form eines Kieselgurpräparates³ in die Säulen eingefüllt. Der Entwickler bestand aus 77 Vol.-% sek. Butanol und 23 Vol.-% Wasser +

Tabelle 1. Trennung verschiedener Vitamine der B₁₂-Gruppe in der Zellulosepulver-Säule unter Verwendung verschiedener Salze im Entwickler.

Salz	Salzkonz. im Entwickler		R-Wert der Vitamin-B ₁₂ -Faktoren				Zonentrennung
	g in 100 ml	Mole pro l	Faktor I	Vit. B ₁₂	Faktor III	Faktor V	
ohne.....	—	—	0,55	0,34	0,23	0,18	I + II diffus, III + V ungetrennt
K-Perchlorat	gesättigt	0,01	0,38	0,27	0,15	0,07	scharf
K-Perchlorat	½ gesättigt	0,005	0,46	0,32	0,12	0,06	scharf
Na-Perchlorat	0,34	0,024	0,43	0,25	0,11	0,05	scharf
NaClO ₄ · H ₂ O	0,17	0,012	0,5	0,28	0,12	0,09	scharf
NaClO ₄ · H ₂ O	0,08	0,005	0,52	0,26	0,09	0,06	scharf
KClO ₃	gesättigt	0,01	0,55	0,31	0,12	0,08	unscharf
KClO ₃	½ gesättigt	0,005	0,5	0,32	0,13	0,08	unscharf
NaClO ₃	0,26	0,025	0,56	0,28	0,12	0,08	sehr scharf
NaClO ₃	0,13	0,012	0,54	0,25	0,15	0,10	sehr scharf
KBrO ₃	gesättigt	0,01	0,51	0,27	0,18	0,12	sehr scharf
KBrO ₃	½ gesättigt	0,005	0,53	0,28	0,13	0,07	sehr scharf
NaBrO ₃	0,18	0,01	0,56	0,35	0,21	0,11	sehr scharf
NaBrO ₃	0,09	0,005	0,5	0,29	0,22	0,12	sehr scharf
KNO ₃	0,1	0,01	0,58	0,37	0,17	0,09	sehr scharf
KNO ₃	0,05	0,005	0,65	0,29	0,14	0,10	sehr scharf
NaNO ₃	0,085	0,01	0,65	0,34	0,14	0,10	sehr scharf

1 ml 10%iger wässriger Bausubstanz in 1 l, sowie verschiedenen Salzen. Tabelle 1 enthält eine Auswahl von Salzen, die sich in ihrer Wirkung unterscheiden, samt den Trenneffekte kennzeichnenden Angaben. Die R₀-Werte sind ein Gradmesser der „Dispersion“, also der Entfernung der einzelnen Zonen voneinander. Trotz guter Dispersion kann aber die Trennung mangelhaft sein, wenn die Zonen diffus oder „unscharf“ sind, also z. T. ineinander übergehen. Daher ist auch die „Scharfe“, also Schmalheit der Zonen, ein wichtiges Kriterium für den Trenneffekt. Tabelle 1 zeigt, daß Salze, die starken einbasischen mehratomigen Säuren entstammen, chromatotrop wirken, also den Trenneffekt der Chromatographie erhöhen. Hierbei gehören Verbindungen verschiedener Zusammensetzung, wie Perchlorate, Nitrate, Trihalogenacetate, Natrium-tetraphenylborat, camphorsulfonsaures Natrium usw. Salze einfacher Säuren, wie z. B. NaCl, Salze mehrbasischer Säuren sowie Salze schwächerer Säuren erhöhen die Dispersion nicht bzw. verursachen sogar ein Ineinanderfließen der Zonen (nicht-chromatotrope Salze).

Für die Erhöhung des Trenneffektes sind allein die Anionen der betreffenden Salze verantwortlich, da sich Natrium- und Kaliumsalze gleicher Säuren in der Regel gleich verhalten. Ammoniumsalze bewirken sich nicht; sie können zur Chromatographie inkompletter B₁₂-Faktoren auch deshalb nicht verwendet werden, weil sie sauer reagieren und die Inkompletion

Trennung verschiedener Vitamine der B₁₂-Gruppe in der Zellulosepulver-Säule unter Verwendung verschiedener Salze im Entwickler.

Fortsetzung von Tabelle 1.

Salz	Salzkonz. im Entwickler		R-Wert der Vitamin-B ₁₂ -Faktoren				Zonentrennung
	g in 100 ml	Mole pro l	Faktor I	Vit. B ₁₂	Faktor III	Faktor V	
NaNO ₃	0,043	0,05	0,66	0,27	0,17	0,10	sehr scharf
ClCH ₂ · CO ₂ Na	0,116	0,01	0,72	0,45	0,21	0,13	unscharf
ClCH ₂ · CO ₂ Na	0,058	0,005	0,61	0,40	0,17	0,11	unscharf
Cl ₂ CH · CO ₂ Na	0,15	0,01	0,67	0,38	0,13	0,10	scharf
Cl ₂ CH · CO ₂ Na	0,076	0,005	0,70	0,37	0,14	0,09	scharf
Cl ₃ C · CO ₂ Na	0,18	0,01	0,62	0,27	0,11	0,06	sehr scharf
Cl ₃ C · CO ₂ Na	0,09	0,005	0,53	0,32	0,13	0,07	sehr scharf
Br ₂ CH · CO ₂ Na	0,24	0,01	0,59	0,36	0,10	0,06	sehr scharf
Br ₂ CH · CO ₂ Na	0,12	0,005	0,53	0,35	0,10	0,06	sehr scharf
Na-Tetraphenylborat	0,17	0,0025	0,56	0,26	0,10	0,04	sehr scharf
Na-Tetraphenylborat	0,086	0,00125	0,51	0,26	0,13	0,06	scharf
Na	0,27	0,01	0,56	0,24	0,07	0,04	sehr scharf
Camphersulfonsaures	0,136	0,005	0,42	0,29	0,09	0,04	sehr scharf
2,4-Dichlorbenzoe-	0,21	0,01	0,56	0,25	0,10	0,04	sehr scharf
saures Na	0,11	0,005	0,50	0,28	0,07	0,05	sehr scharf
Naphthalinsulfonsaures	0,23	0,01	0,53	0,26	0,09	0,05	sehr scharf
Na	0,11	0,005	0,52	0,27	0,11	0,08	sehr scharf
K-Oxalat	0,031	0,0017	0,45	0,26	0,15	0,10	unscharf
K-Tartrat	0,035	0,0015	0,51	0,31	0,20	0,12	unscharf

Faktoren z. T. in ihre Hydroxy-Form überführen, wodurch oft mehrere Zonen entstehen. Nicht salzartige Stoffe, wie z. B. 8-Oxyrhodol, Glycerin, Glucose, Harnstoff und Thioharnstoff, sind in geringen Konzentrationen (0,01 Mole/l) praktisch ohne Einfluß.

Papierchromatographie von B₁₂-Vitaminen unter Verwendung verschiedener Salze im Entwickler.

Die Papierchromatographie wurde wie bereits beschrieben durchgeführt. Entwickler: wasseriges Seife, Butanol mit 1 ml 10%iger wässriger Blausäure in 1:1 mit verschiedenen Salzen. Temperatur etwa 21 bis 23°. Entwicklungszeit: 10 Stunden (falls nichts anderes bemerkt). Entwicklung aufsteigend.

Die papierchromatographischen Versuche bestätigten im allgemeinen die säulenchromatographischen Ergebnisse mit der Ausnahme, daß sich hier z. B. Kaliumbromat und dibromessigsaures Natrium nicht gut bewährten. Tabelle 2 enthält Salze, die eine gute Trennung von Vitamin B₁₂, Vitamin-B₁₂-Faktor III₄ und Pseudovitamin B₁₂ ergaben (vgl. auch Papierchromatogramme Nr. 1 bis 16). Am besten bewährten sich Kalium- bzw. Natriumpentaborat, Natriumtrichloracetat, Natriumtetraphenylborat und camphersulfonsaures Natrium. Sie verursachen eine besonders hohe Dispersion und eine ausgezeichnete Trennschärfe der Flecke. Natriumdichloracetat bewährte sich fast so gut wie Natrium-

Tabelle 2. Papierchromatographische Trennung verschiedener Vitamine der B₁₂-Gruppe unter Verwendung verschiedener Salze im Entwickler.

Nr.	Salz	Salzkonz. im Entwickler		R _F -Werte der B ₁₂ -Faktoren			Dispersion * mm
		g in 100 ml	Mole pro l	Vit. B ₁₂	Faktor III	ψ-Vit. B ₁₂	
1	ohne	—	—	0,31	0,24	0,22	22,0
2	KClO ₄	gesättigt	0,01	0,34	0,26	0,14	44,0
3	NaClO ₄ · H ₂ O	0,34	0,024	0,32	0,24	0,14	40,5
4	KClO ₃	gesättigt	0,01	0,25	0,18	0,10	32,0
5	NaClO ₃	0,13	0,012	0,28	0,21	0,14	34,0
6	KNO ₃	0,10	0,01	0,27	0,20	0,13	33,0
7	NaNO ₃	0,085	0,01	0,27	0,20	0,13	32,5
8	Cl ₃ CH · CO ₂ Na	0,116	0,01	0,27	0,29	0,13	31,0
9	Cl ₃ CH · CO ₂ Na	0,151	0,01	0,32	0,25	0,16	37,5
10	Cl ₃ C · CO ₂ Na	0,185	0,01	0,34	0,26	0,14	45,0
11	Na-Tetraphenylborat	0,171	0,005	0,33	0,25	0,13	44,0
12	Camphersulfonsaures Na	0,272	0,01	0,33	0,25	0,24	40,5
13	KCl	0,074	0,01	0,25	0,18	0,13	26,0
14	K ₂ HPO ₄	0,174	0,01	0,20	0,14	0,11	19,5
15	Na ₂ SO ₄	0,142	0,01	0,20	0,14	0,12	20,0
16	ohne	—	—	0,31	0,25	0,22	20,0

* Entfernung zwischen den extremen Flecken in mm.

Tabelle 3. Papierchromatographische Trennung verschiedener Vitamine der B₁₂-Gruppe unter Verwendung steigender Konzentrationen chromatotroper Salze im Entwickler.

Nr.	Salz	Salzkonz. im Entwickler		R _F -Wert der B ₁₂ -Faktoren			Dispersion mm
		g in 100 ml	Mole pro l	Vit. B ₁₂	Faktor III	φ-Vit. B ₁₂	
17	ohne	—	—	0,29	0,23	0,19	21,5
18	KClO ₄	1/8 gesättigt	—	0,31	0,24	0,17	33,5
19		1/4 gesättigt	—	0,31	0,24	0,15	37,5
20		1/2 gesättigt	0,005	0,33	0,26	0,16	40,5
21		gesättigt	0,01	0,32	0,25	0,15	40,0
22	Na-Tetraphenylborat	0,22	0,0003	0,29	0,23	0,18	26,5
23		0,043	0,0006	0,31	0,24	0,17	31,5
24		0,086	0,00125	0,29	0,22	0,14	35,0
25		0,171	0,0025	0,30	0,24	0,14	38,5
26		0,342	0,005	0,32	0,24	0,11	48,0
27		0,72	0,01	0,31	0,22	0,08	49,5
28		1,44	0,022	0,33	0,21	0,07	55,0
29		2,87	0,044	0,33	0,19	0,06	59,5
30		5,7	0,088	0,39	0,24	0,07	65,0
31	ohne	—	—	0,29	0,23	0,19	22,0
32	Camphersulfonsaures Na	0,034	0,00125	0,31	0,24	0,17	31,5
33		0,068	0,0025	0,31	0,24	0,16	34,0
34		0,136	0,005	0,31	0,24	0,15	35,0

trichloracetat, weniger das Monochloracetat, desgleichen Chloride und Nitrate. Kaliumchlorid, sec. Kaliumphosphat und Natriumsulfat vermindern nur stark die Wanderungsgeschwindigkeit der B₁₂-Arten, ohne jedoch die Dispersion zu erhöhen.

Einfluß der Konzentration chromatotroper Salze auf den Verlauf der Papierchromatographie. Mit steigender Konzentration chromatotroper Salze wird im allgemeinen die Dispersion erhöht (vgl. Tabelle 3 sowie Papierchromatogramme Nr. 17 bis 52 und 134 bis 141). Dies ist beim Kaliumperchlorat weniger deutlich, da es infolge seiner Schwerlöslichkeit nur eine recht geringe Konzentration im Entwickler erreichen kann (Papierchromatogramme Nr. 17 bis 21). Die Erhöhung der Dispersion mit der Salzkonzentration ist deutlicher beim Natriumsulfat des Camphersulfonsäure (Papierchromatogramme 31 bis 41), noch deutlicher bei Natriumtrichloracetat (Papierchromatogramme Nr. 42 bis 52), am deutlichsten bei Natriumtetraphenylborat (Papierchromatogramme Nr. 22 bis 30). Die erzielte Erhöhung der Dispersion gegenüber der Kontrolle ohne Salze (Papierchromatogramme Nr. 17, 31, 42) ist das Ergebnis zweier Effekte, nämlich der Verminderung der Wanderungsgeschwindigkeit vor allem der langsameren B₁₂-Arten sowie der Beeinflussung des Laufes vor allem der schnelleren B₁₂-Arten. Je nachdem, welcher dieser

Papierchromatographische Trennung verschiedener Vitamine der B₁₂-Gruppe unter Verwendung steigender Konzentrationen chromatotroper Salze im Entwickler.

Fortsetzung von Tabelle 3.

Nr.	Salz	Salzkonz. im Entwickler		R _F -Werte der B ₁₂ -Faktoren			Dispersions- mm
		g in 100 ml	Mole pro l	Vit. B ₁₂	Faktor III	ψ-Vit. B ₁₂	
35	Camphersulfonsaures Na.....	0,272	0,01	0,32	0,25	0,15	40,0
36		0,544	0,02	0,30	0,22	0,12	39,5
37		0,78	0,03	0,30	0,21	0,12	39,5
38		1,56	0,06	0,31	0,21	0,11	44,0
39		3,125	0,12	0,33	0,22	0,12	55,9
40		6,25	0,23	0,30	0,20	0,10	40,0
41		12,5	0,46	0,30	0,19	0,10	39,0
42	ohne	—	—	0,30	0,23	0,20	23,0
43	Trichloressigsaurer Na	0,023	0,00125	0,32	0,25	0,18	31,0
44		0,046	0,0025	0,31	0,25	0,17	34,0
45		0,009	0,005	0,30	0,23	0,14	36,0
46		0,185	0,01	0,32	0,24	0,14	41,0
47		0,37	0,02	0,34	0,25	0,13	45,0
48		0,74	0,04	0,34	0,25	0,15	44,0
49		1,48	0,08	0,37	0,27	0,15	49,0
50		2,96	0,16	0,40	0,30	0,18	51,0
51		5,92	0,32	0,50	0,39	0,25	54,0
52		11,84	0,64	0,45	0,32	0,20	51,0

Tabelle 4.

Papierchromatographische Trennung von sechs verschiedenen Vitamin-B₁₂-Faktoren bei verschiedenen Konzentrationen an Na-Tetraraphenylborat im Entwickler. Entwicklungsdauer: 23 Stunden. Reihenfolge der Vit. Faktor I, in den Papierchromatogrammen der Abb. 1 (von oben nach unten) Faktor I, Faktor IIa, Vitamin B₁₂, Faktor III, Faktor IV, Vitamin B₁₂.

Papierchromatogramm Nr.	134	135	136	137	138	139	140	141
Na-Tetraraphenylborat	0,05	0,1	0,2	0,375	0,75	1,5	3,0	

ist, eignen sich die mittleren Konzentrationen an Natriumtetraraphenylborat (0,1 bis 0,4%) am besten zur Trennung der B₁₂-Faktoren. Eine

vollständige Trennung von Faktor A und Pseudovitamin B₁₂ gelingt mit Kalium- bzw. Natriumperchlorat (Tabelle 5, Papierchromatogramme 142 bis 145 in Abb. 1).

Tabelle 5. Papierchromatographische Trennung von Faktor A und ψ -Vitamin B₁₂ bei verschiedenen Konzentrationen an Perchloraten im Entwickler. Entwicklungsdauer: 76 Stunden.

Nr.	Salz	Salzkonz. %	R _f -Wert von	
			Faktor A	ψ -Vit. B ₁₂
142	KClO ₄	gesättigt	0,24	0,18
143	NaClO ₄	0,3	0,26	0,22
144	NaClO ₄	1,0	0,21	0,17
145	NaClO ₄	3,0	0,19	0,16

Wie aus dem Papierchromatogramm 147 ersichtlich ist, lassen sich auch die Faktoren III und C in Gegenwart von 3% Na-Tetraphenylborat im Entwickler vorzüglich trennen. Ohne Salzzusatz bleiben diese Faktoren ungetrennt (vgl. Papierchromatogramm 146 und Tabelle 6). Die Papierchromatogramme 148 und 149 zeigen, daß ein Zusatz von Na-Tetraphenylborat zum Entwickler die Wanderung des Faktors V stark abbremst (vgl. Tabelle 6).

Tabelle 6. Papierchromatographische Trennung von einigen Vitamin-B₁₂-Faktoren mit bzw. ohne Na-Tetraphenylborat. Entwicklungsdauer: 24 Stunden.

Nr.	Salzkonz. %	R _f -Wert von			
		Vitamin B ₁₂	Faktor III	Faktor C*	Faktor V
146	ohne	0,28	0,22	0,22	—
147	3	0,34	0,20	0,09	—
148	ohne	0,29	0,23	—	0,15
149	3	0,32	0,18	—	0,02

* Aus biosynthetischen Versuchen von Dr. Hanswerner Dellweg und Frau Elisabeth Becher.

Mit unbehandeltem Filterpapier und salzfreiem Entwickler werden der Faktor III und Pseudovitamin B₁₂ nur sehr schlecht getrennt (Faktor A liegt stets dazwischen). Bei Benützung eines mit destilliertem Wasser oder mit völlig salzfreiem Entwickler vorgewaschenen Filterpapiers bleiben Faktor III und Pseudovitamin B₁₂ völlig ungetrennt (vgl. Papierchromatogramm 125; oberer Fleck: Vitamin B₁₂, unterer: Faktor III + ψ -Vitamin B₁₂). Durch eingehende Versuche wurde festgestellt, daß eine Imprägnierung der Papierstreifen mit chromatotropen Salzen — gleich, ob die Imprägnierung durch Aufsteigenlassen der Salzlösung und darauf folgendes Trocknen oder durch Einlegen in Salzlösung und Trocknen erfolgt — zwecklos ist. So imprägnierte Streifen verhalten sich praktisch wie nicht vorbehandeltes Papier.

Beseitigung von Salzstörungen in der Papierchromatographie durch chromatotrope Salze. Vitamin-B₁₂-Gemische, die größere Mengen nicht-chromatotroper Salze enthalten, lassen sich papierchromatographisch nicht trennen. Während der Entwicklung mit salzfreiem Entwickler wird der Vitamin-B₁₂-Fleck verwischt, so daß keine Trennung möglich ist. Stark salzhaltige Vitamin-B₁₂-Gemische sind aber papierchromatographisch gut trennbar, wenn dem Entwickler (sec. Butanol-Wasser) gewisse chromatotrope Salze in genügend hohen Konzentrationen beigefügt werden.

Zur Demonstrierung von Salzstörungen und deren Beseitigung wurden auf die getrockneten Flecke der Vitamin-B₁₂-Gemische auf Filterpapierstreifen Salzlösungen (enthaltend jeweils ca. 0,003 ml einer wäßrigen Lösung der störenden Salze) aufgetragen. Nach dem Trocknen wurden die Streifen mit salzfreien bzw. salzhaltigen sec. Butanol-Wasser-Gemischen entwickelt. Die zur Beseitigung von Salzstörungen verwendeten chromatotropen Salze wurden jeweils in zwei verschiedenen Konzentrationen im Entwickler verwendet. Die niedrigere Konzentration war optimal für salzfreie Proben der B₁₂-Vitamine. Die höhere Konzentration stellt die obere Grenze für die papierchromatographische Trennbarkeit salzfreier Proben der B₁₂-Vitamine vor.

Aus der Tabelle 7 und den Papierchromatogrammen 53 bis 124 der Abb. 1 ist folgendes zu entnehmen:

Tabelle 7. Papierchromatographische Trennung von Vitamin B₁₂, Faktor III und ψ -Vitamin B₁₂ in Gegenwart störender Salze mit verschiedenen chromatotropen Salzen im Entwickler.

Chromatotropes Salz	Formel	%	(NH ₄) ₂ SO ₄				K ₂ HPO ₄				NaCl			
			Nr.	%	Flecke		Zahl	%	Nr.	Trennung	Nr.	%	Flecke	
					Zahl	Trennung							Zahl	Trennung
ohne	—	—	53	18,8	1	diffus	77	15,9	1	diffus	101	9,0	1	diffus
KClO ₄	gesättigt	—	54	18,8	1	diffus	78	15,9	1	diffus	102	0,0	1	diffus
Camphersulfonsaures Na	0,54	—	55	18,8	2	diffus	79	15,9	2	diffus	103	9,0	1	diffus
Cl ₃ C · CO ₂ Na	0,37	—	56	18,8	3	gut	80	15,9	3	diffus	104	9,0	3	diffus
Cl ₃ C · CO ₂ Na	0,37	—	57	18,8	1	diffus	81	15,9	1	diffus	105	9,0	1	diffus
Na-Tetraphenylborat	0,342	—	58	18,8	3	gut	82	15,9	3	gut	106	9,0	1	diffus ^c
ohne	—	—	59	18,8	2	diffus	83	15,9	1	diffus	107	9,0	1	diffus
KClO ₄	gesättigt	—	60	18,8	3	sehr gut	84	15,9	3	sehr gut	108	9,0	3	diffus
Camphersulfonsaures Na	0,54	—	61	7,54	2	diffus	85	8,0	2	diffus	109	3,6	1	diffus
Cl ₃ C · CO ₂ Na	0,37	—	62	7,54	2	diffus	86	8,0	3	gut	110	3,6	1	diffus
Na-Tetraphenylborat	0,342	—	63	7,54	3	gut	87	8,0	3	gut	111	3,6	1	diffus ^c
ohne	—	—	64	7,54	3	gut	88	8,0	3	diffus	112	3,6	3	gut
KClO ₄	gesättigt	—	65	7,54	2	diffus	89	8,0	3	sehr gut	113	3,6	3	diffus
Camphersulfonsaures Na	0,54	—	66	7,54	3	gut	90	8,0	3	diffus	114	3,6	3	diffus
Cl ₃ C · CO ₂ Na	0,37	—	67	7,54	3	sehr gut	91	8,0	2	diffus ^c	115	3,6	1	diffus ^c
Na-Tetraphenylborat	0,342	—	68	7,54	3	sehr gut	92	8,0	3	sehr gut	116	3,6	4	d ^d
ohne	—	—	69	3,77	2	diffus	93	4,0	3	diffus	117	1,8	2	diffus
KClO ₄	gesättigt	—	70	3,77	3	diffus	94	4,0	3	diffus	118	1,8	3	diffus
Camphersulfonsaures Na	0,54	—	71	3,77	3	sehr gut	95	4,0	3	sehr gut	119	1,8	3	gut
Cl ₃ C · CO ₂ Na	0,37	—	72	3,77	3	gut	96	4,0	3	gut	120	1,8	3	gut
Na-Tetraphenylborat	0,342	—	73	3,77	3	sehr gut	97	4,0	3	sehr gut	121	1,8	2	diffus
ohne	—	—	74	3,77	3	gut	98	4,0	3	diffus	122	1,8	3	gut
KClO ₄	gesättigt	—	75	3,77	3	sehr gut	99	4,0	3	diffus	123	1,8	3	gut
Camphersulfonsaures Na	0,54	—	76	3,77	3	sehr gut	100	4,0	3	sehr gut	124	1,8	3	gut

^a Konzentration im Entwickler. — ^b Konzentration in der B₁₂-Lösung. — ^c Flecke langgezogen, ineinander übergehend.^d Pseudovitamin B₁₂ gab in diesem Fall 2 Flecke.

Gemische der B₁₂-Vitamine, die in ihren wässrigen Lösungen mehr als 4% Ammoniumsulfat oder mehr als 8% sec. Kaliumphosphat oder mehr als 1% Natriumchlorid enthalten, lassen sich unter den üblichen Bedingungen papierchromatographisch nicht trennen.

Vitamin-B₁₂-Gemische, die in ihren wässrigen Lösungen bis gegen 20% Ammoniumsulfat oder bis 16% sec. Kaliumphosphat enthalten, lassen sich papierchromatographisch mit hoher Dispersion und sehr guter Schärfe trennen, wenn der Entwickler etwa 6% camphersulfonsaures Natrium oder etwa 6% trichloressigsames Natrium oder etwa 3% Natriumtetraphenylborat enthält.

Vitamin-B₁₂-Gemische, die in ihrer wässrigen Lösung bis etwa 9% Natriumchlorid enthalten, lassen sich papierchromatographisch trennen, wenn der Entwickler ca. 3% Natriumtetraphenylborat enthält. Wenn in der zu chromatographierenden Lösung weniger als 4% Natriumchlorid vorhanden sind, ist eine Trennung möglich, wenn der Entwickler etwa 6% camphersulfonsaures Natrium oder etwa 6% trichloressigsames Natrium oder etwa 3% Natriumtetraphenylborat enthält.

Diffusion von B₁₂-Vitaminen durch eine halbdurchlässige Zellulosemembran in Gegenwart chromatotroper Salze.

Als Diffusionskammern dienten unten geschlossene Glasrohre (Durchmesser: 2 cm, Höhe: 7 cm), in die Glasrohre (Durchmesser: 1,3 cm) eingesetzt wurden, die unten mit einer Zellulosemembran (Cellophan-Dialysierschlauch der Firma Kalle & Co., A. G., Wiesbaden-Biebrich) verschlossen waren. Beide Gefäße wurden mit einer Lösung des chromatotropen Salzes in cyanidhaltigem wassergesättigtem sec. Butanol bis zum gleichem Niveau gefüllt. Im Medium des äußeren Gefäßes war außerdem ein Vitamin-B₁₂-Faktor in einer Konzentration von 0,1 mg/ml gelöst. Die Proben wurden im Dunkeln unter zeitweisem Rühren 48 Stunden stehengelassen. Sodann wurde der Gehalt an B₁₂-Faktor im inneren Gefäß mittels des Beckmann-DU-Spectrophotometers gemessen (siehe Abb. 2 und 3).

Abb. 2 zeigt, daß die Diffusionsgeschwindigkeit des B₁₂-Faktors III in wassergesättigtem sec. Butanol durch camphersulfonsaures Natrium abhängig von dessen Konzentration beträchtlich beeinflusst wird. Das gleiche gilt für die Wirkung von Kaliumperchlorat auf Vitamin B₁₂ (Abb. 3). In beiden Fällen verursachen sehr niedrige Salzkonzentrationen eine Beschleunigung und höhere eine Verlangsamung der Diffusionsgeschwindigkeit. In der Papierchromatographie beobachteten wir oft in denselben Konzentrationsbereichen der betreffenden Salze eine gleichartige Beschleunigung bzw. Verlangsamung der Wanderungsgeschwindigkeit (vgl. Papierchromatogramme 31 bis 41). Abb. 4 zeigt die *R_f*-Werte von drei Vitamin-B₁₂-Arten abhängig von der Konzentration an camphersulfonsaurem Natrium. Diese Ergebnisse stützen unsere Annahme, daß in der Zellose Säule sowie im Papierchromatogramm osmotische Vorgänge stattfinden, die durch Salze weitgehend beeinflusst werden. Die Verteilungsvorgänge im Papierstreifen und die Diffusionsvorgänge beiderseits einer halbdurchlässigen Membran sind daher offenbar ganz eng miteinander verwandt. Wir beabsichtigen, die Diffusionsversuche auf weitere Vitamine der B₁₂-Gruppe sowie auf weitere chromatotrope Salze auszudehnen.

Diskussion.

Untersuchungen über die Vitamine der B₁₂-Gruppe werden dadurch erschwert, daß es sich um sehr ähnliche Verbindungen handelt. Die z. T. minimalen Unterschiede in ihrem strukturellen Aufbau wirken sich bei dem hohen Molekulargewicht nur wenig aus. Für die Prüfung der biologischen Eigenschaften ist aber die Anwendung völlig einheitlicher Individuen entscheidend. Solange geeignete Methoden fehlten, gelangte man daher häufig zu mancherlei Irrtümern hinsichtlich der Einheitlichkeit einer Vitamin-B₁₂-Art und manche zunächst berichteten biologischen Wirkungen neuer B₁₂-Faktoren hielten einer Überprüfung mit völlig einheitlichen Substanzen nicht stand.

Die Papierchromatographie erwies sich in der üblichen Ausführungsform als nicht genug zuverlässig, um eine Entscheidung über die Einheitlichkeit einer B₁₂-Art fällen zu können. Ebenso wenig ist die Papierelektrophorese allein imstande, die Einheitlichkeit eines B₁₂-Faktors sicherzustellen, da es mehrere Vitamin-B₁₂-Arten gibt, die sich elektrophoretisch gleich verhalten. Erst die Kombination der Papierchromatographie mit der Papierelektrophorese brachte einen entscheidenden Fortschritt⁵.

In der vorliegenden Untersuchung wird die chromatographische Methode zur Zerlegung von B₁₂-Gemischen soweit vervollkommenet, daß sie in der beschriebenen Form eine zuverlässige Trennung gestattet und den Nachweis der Einheitlichkeit eines B₁₂-Faktors ermöglicht.

Es zeigte sich nämlich, daß die Trennung von Vitamin-B₁₂-Arten in der Zellose Säule und im Papierchromatogramm durch die Anwesenheit von Salzen weitgehend beeinflusst wird. Wenn man Filterpapier vor der Chromatographie durch Waschen mit destilliertem Wasser bzw. mit völlig salzfreiem Entwickler von den üblicherweise vorhandenen Salzspuren befreit, dann lassen sich gewisse B₁₂-Vitamine, nämlich Faktor III, Faktor A und Pseudovitamin B₁₂, überhaupt nicht trennen, sie wandern gemeinsam. Fast ebenso verhalten sich die B₁₂-Faktoren III und C. Daraus ergibt sich, daß ein gewisser Ionengehalt für die Trennung unerlässlich ist.

Je nach der Art der anwesenden Salze wird aber die Trennung entweder in positivem oder in negativem Sinn beeinflusst, so daß man von chromatotropen und nicht-chromatotropen Salzen sprechen kann. Die Wirkung der chromatotropen Salze besteht darin, daß sie die Wanderung der B_{12} -Arten in verschiedenem Sinn beeinflussen, indem nämlich die rasch wandernden B_{12} -Arten (Faktor I, Ia und Vitamin B_{12}) im allgemeinen beschleunigt, die langsamen (Faktor III, Faktor A, Pseudovitamin B_{12} Faktor C und die Faktoren V) gebremst werden. Das Ergebnis der unterschiedlichen Beschleunigung bzw. Verlangsamung der Wanderungsgeschwindigkeit der einzelnen B_{12} -Faktoren ist deren erhöhte Dispersion und damit bessere Trennung. Dies wirkt sich besonders bei den langsam wandernden Faktoren aus, die ohne chromatotrope Salze fast ganz beisammen bleiben, in deren Gegenwart aber gut getrennt werden. Faktor A und Pseudovitamin B_{12} , die sich nur durch eine Methylgruppe voneinander unterscheiden und deren Trennung bisher nur elektrophoretisch möglich war⁶, können nunmehr auch papier- und säulenchromatographisch zerlegt werden.

Bei dieser vervollkommenen chromatographischen Methode bewährte sich im Papierchromatogramm nur die Beimischung der chromatotropen Salze zum Entwickler. *Wijmenga*⁷ versuchte zwar, die Trennung von Vitaminen der B_{12} -Gruppe dadurch zu verbessern, daß er die Papierstreifen mit 0,66-n KH_2PO_4 imprägnierte, um so die im System n-Butanol-Wasser sehr niedrigen R_f -Werte zu erhöhen, doch blieb der Effekt fraglich. Nach unseren Beobachtungen gehören übrigens Phosphate zu den nicht-chromatotropen Salzen und ihre Anwesenheit im Papierchromatogramm wirkt störend. Aber auch die Imprägnierung der Papierstreifen mit chromatotropen Salzen erwies sich als ungeeignet, da sie mit dem Entwickler rasch abwandern, wodurch ihre Wirkung verlorengeht. Wohl aber können in der Säulenchromatographie chromatotrope Salze mit dem Kieselgurpräparat vermengt und so in die Säule eingeführt werden¹. Die mit dem Entwickler wandernden Salze verteilen sich im Papierstreifen sowie in der Chromatographiersäule gleichmäßig. Wenn der Entwickler z. B. Natriumtetraphenylborat enthält, dann besitzt der entwickelte Papierstreifen überall die gleiche Menge an Salz.

Der Wirkungsmechanismus der chromatotropen Salze konnte noch nicht endgültig geklärt werden. Auffallend ist aber die Auffindung einer gewissen Parallele zwischen der Wirkung bestimmter Konzentrationen an chromatotropen Salzen einerseits auf die Geschwindigkeit der Diffusion von Vitamin- B_{12} -Arten durch eine semipermeable Zellulosemembran und andererseits auf deren Wanderungsgeschwindigkeit im Papierchromatogramm. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß die Zellulose-säule bzw. das Filterpapier bei der Chromatographie wie halbdurchlässige Membranen wirken, indem sie die mit dem Entwickler wandernden B_{12} -Arten mit verschiedener Geschwindigkeit diffundieren lassen.

Einen weiteren Beitrag zur Erklärung der Wirkung chromatotroper Salze bietet die Vorstellung, daß die chromatotropen Anionen mit den B_{12} -Vitaminen Komplexe bzw. Aggregate bilden (zum Grundsätzlichen vgl.^{2, 8}) oder daß sie das Adsorptionsmittel (Zellulose) verändern. In diesem Zusammenhang sei auch auf die Beobachtung von *Waldron-Edward*⁹ verwiesen, daß bei der Papierchromatographie gewisser Amino-verbindungen bereits 5 bis 50 μg Sulfat im Fleck eine starke Verminderung des R_f -Wertes verursachen kann. Der Verfasser führt diesen Effekt auf eine Salzbildung zurück, da beim Zusatz einer sehr kleinen Menge Natriumsulfat zwei Flecke im Papierchromatogramm erscheinen, einer mit normalem und ein anderer mit niedrigerem R_f -Wert (Na-Salz). Ferner beobachteten *Ericson* u. a.¹⁰ bei der Papierelektrophorese von Vitamin- B_{12} -Präparaten das Auftreten eines anodisch wandernden Fleckes und suchten dessen Verhalten dadurch zu erklären, daß es sich dabei um einen Komplex zwischen dem Phosphatpuffer und Cobalamin handle.

Ferner könnte versucht werden, die Beobachtungen über die „Aus-salungs-Adsorption“ bzw. „Aussalzungschromatographie“ (salting out adsorption, salting out chromatography) zur Erklärung unserer Befunde über die Wirkung der chromatotropen Salze heranzuziehen. So fand *Tiselius*, daß viele Proteine und Farbstoffe in Gegenwart von Salzen (z. B.

Ammoniumsulfat) besser adsorbierbar sind (z. B. an Silicagel oder Filterpapier) als ohne Salze^{11, 12}. Weiter fanden *Hagdahl* und *Tiselius*¹³, daß Aminosäuren und Peptide sich an Kohle und Filterpapier ähnlich verhalten und daß nach dem Aussalzungsprinzip ganz zufriedenstellende Papierchromatogramme erhalten werden, wenn als Entwickler starke (1- bis 2-molare) Phosphatpuffer verwendet werden. In Abwesenheit von Salzen findet praktisch keine Adsorption statt. Papierchromatographische Trennungen von Proteinen mit Hilfe von Salzkonzentrationsgradienten wurden von *Legge*¹⁴ ausgeführt. Die dabei beobachteten Effekte beruhen meist darauf, daß die Ionen gewisser Salze, wie z. B. Ammoniumsulfat, Natriumchlorid und Natriumsulfat, Wassermoleküle adsorbieren und auf diese Weise eine relative Verringerung der Wasserkonzentration bewirken. Ein Zusatz solcher Salze vermindert im allgemeinen auch die Löslichkeit organischer Lösungsmittel in Wasser¹⁵. Derartige Salze sind aber nach unseren Beobachtungen nicht chromatotrop und eignen sich nicht für unsere Zwecke. In unserem Fall könnte die Annahme, daß chromatotrope Ionen Wasser anlagern und so die wirksame Wasserkonzentration des Lösungsmittels verringern, vielleicht für höhere Salzkonzentrationen zutreffen, nicht aber für Konzentrationen der Größenordnung von 0,05%, bei denen bereits ein Bremseffekt auftritt (wie sich z. B. bei der Wirkung von Kaliumperchlorat auf Pseudovitamin B₁₂ zeigt). Andererseits bewirkt z. B. Natriumtrichloracetat bis zu relativ hohen Salzkonzentrationen (6%) eine Erhöhung der *R_f*-Werte von Vitamin B₁₂ und Faktor III. Außerdem werden durch die Anionen der lösungsvermittelnden Salze auch die Moleküle des organischen Lösungsmittels angelagert, so daß es in diesem Fall nicht ohne weiteres zu einer Verringerung der wirksamen Wasserkonzentration kommen kann.

Zur weiteren Abgrenzung unserer Befunde von der „Aussalzungs-Adsorption“ bzw. „Aussalzungschromatographie“ sei darauf hingewiesen, daß es sich bei den letztgenannten Effekten nur um eine Verlangsamung der Wanderung handelt. Beschleunigende Salzwirkungen, wie sie bei unserer Methode vorkommen, und die deren wesentliches Trennprinzip sind, wurden mit der Aussalzungs-Methodik niemals erzielt.

Durch nicht-chromatotrope Salze wird die chromatographische Auftrennung von Gemischen der B₁₂-Arten sehr gestört, da sie ein Ineinanderfließen der Zonen bzw. Flecke verursachen. Derartige Salze sind aber häufig in den zu chromatographierenden Proben enthalten. Dies gilt natürlich nicht nur für B₁₂-haltige Proben, sondern ganz allgemein. Diese Effekte werden auf die Aussalzung des organischen Lösungsmittels aus der mobilen Phase zurückgeführt. So beobachteten *Consden* u. a.¹⁶ sowie *Partridge*¹⁷, daß große Mengen salzartiger Verunreinigungen die Papierchromatographie stören, und empfahlen, die betreffenden Proben vorher mit Hilfe von Ionenaustauschern zu entsalzen. Es erweist sich daher als sehr nutzbringend, daß nach unseren Untersuchungen durch den Zusatz gewisser chromatotroper Salze zum Entwickler solche Salzstörungen in der Papierchromatographie der Vitamine der B₁₂-Gruppe völlig oder weitestgehend beseitigt werden können. Wenn es sich nur um analytische Aufgaben handelt, ist diese Maßnahme weitaus einfacher als die zeitraubende und verlustreiche Entsatzung mit Ionenaustauschern. Diese Methode könnte auch bei der Papierchromatographie anderer Stoffgemische von Nutzen sein.

Dieser Effekt der angeführten chromatotropen Salze ist wohl in der Weise zu erklären, daß sie gute Lösungsvermittler sind. Wenn man sehr kleine Mengen dieser Salze einem zweiphasigen Gemisch von Wasser und sec. Butanol beimengt, verschwindet die Phasengrenze, das heißt, die beiden Phasen sind dann völlig miteinander mischbar. Die Beseitigung der Salzstörungen durch solche chromatotrope Salze ist so zu erklären, daß die Aussalzung von Wasser im Chromatogramm an Stellen, wo störende Salze in höheren Konzentrationen auftreten, völlig verhindert wird. Die lösungsvermittelnde Eigenschaft dieser chromatotropen Anionen beruht darauf, daß sie als Ionen hydrophil sind und gleichzeitig Gruppen besitzen, die ihnen eine beträchtliche Affinität zu organischen Lösungsmitteln verleihen. So lagern sich die Anionen an der Butanol-Wasser-Phasengrenze an, wodurch sich die beiden Phasen ineinander lösen. Nicht alle chromatotropen

Salze sind Lösungsvermittler, so fehlt z. B. den Nitraten, Chloraten und Bromaten diese Eigenschaft. Es ist auffallend, daß unter den chromatotropen Salzen diejenigen für die Chromatographie der B_{12} -Vitamine am geeignetsten sind, also eine hohe Dispersion verursachen, die gleichzeitig gute Lösungsvermittler sind.

Für die freundliche Überlassung von krist. Pseudovitamin B_{12} haben wir Herrn Dr. Jos. J. Pfiffner (Parke, Davis & Co., USA) und von krist. B_{12} -Faktor A Herrn Dr. E. Lester Smith (Glaxo Laboratories, England) bestens zu danken, für die technische Mitarbeit Fräulein R. Eitel.

Zusammenfassung.

Die Trennung von Vitaminen der B_{12} -Gruppe in der Zellulosepulver-Säule sowie im Papierchromatogramm ist besonders erfolgreich, wenn das als Entwickler benutzte Gemisch von sec. Butanol und Wasser in kleinen Mengen „chromatotrope“ Salze enthält. Als solche wirken die Natrium- und Kaliumsalze starker einbasischer mehratomiger Säuren. Besonders bewährten sich Natriumtetraphenylborat, camphersulfonsaures Natrium, Kalium- und Natriumperchlorat sowie trichloressigsäures Natrium.

Bei Verwendung höherer Konzentrationen der zuletzt genannten chromatotropen Salze im Entwickler können Gemische von Vitamin- B_{12} -Arten, die durch störende Salze verunreinigt sind und sich dadurch papierchromatographisch nicht trennen lassen, gut in die einzelnen Bestandteile zerlegt werden. Dieser Effekt kann durch die lösungsvermittelnde Eigenschaft dieser Salze erklärt werden.

Die Zellolesäule bzw. das Filterpapier verhalten sich in Gegenwart des Entwicklers und der chromatotropen Salze ähnlich wie eine halbdurchlässige Membran aus Zellulose (Zellulosehydratfolie).

Summary.

The separation of vitamins of the B_{12} group in the cellulose powder column as well as in the paper chromatogram is particularly successful if the mixture of sec. butanol and water used as developer contains small amounts of "chromatotropic" salts. The sodium and potassium salts of monobasic polyatomic acids serve this purpose. Especially recommended are: sodium tetraphenyl borate, sodium camphorsulfonate, potassium and sodium perchlorate, and sodium trichloroacetate.

If higher concentrations of the latter named chromatotropic salts are used in the developer, mixtures of vitamin B_{12} -species, which are contaminated with interfering salts and which cannot be separated by paper chromatography, can be effectively resolved into the individual constituents. These effects can be explained by the solubilizing characteristic of these salts.

In the presence of the developer and the chromatotropic salts the cellulose column or the filter paper behave similar to a semipermeable membrane of cellulose (cellulose hydrate film).

Literatur.

- ¹ W. Friedrich und K. Bernhauer, Z. Naturforsch. 10 b, 6 (1955).
 - ² R. Wolff, Angew. Chem. 67, 89 (1955).
 - ³ W. Friedrich und K. Bernhauer, Z. Naturforsch. 9b, 755 (1954).
 - ⁴ W. Friedrich und K. Bernhauer, Angew. Chem. 65, 627 (1953).
 - ⁵ J. E. Ford und S. H. Hutner, Vitamins and Hormones Vol. 13 (1955).
 - ⁶ J. E. Ford, E. S. Holdsworth, S. K. Kon und J. W. G. Porter, Nature 171, 148 (1953).
 - ⁷ H. G. Wijmenga, Dissertation, Utrecht. 1951.
 - ⁸ H. G. Cassidy, Adsorption and Chromatography. New York: Interscience. 1951. S. 90.
 - ⁹ D. M. Waldron-Edward, Chem. and Ind. 1954, 104.
 - ¹⁰ L. E. Ericson, Z. G. Bánhidi und G. Gasparetto, Acta Chem. Scand. 6, 1130 (1952).
 - ¹¹ Vgl. E. Lederer und M. Lederer, Chromatography. New York: Elsevier. 1953. S. 229.
 - ¹² A. Tiselius, Ark. Kemi 26 B, Nr. 1 (1948).
 - ¹³ R. Hagdahl und A. Tiselius, Nature 170, 799 (1952).
 - ¹⁴ Vgl. Zitat 11, l. c. S. 232.
 - ¹⁵ Vgl. Zitat 8, l. c. S. 88 bis 89.
 - ¹⁶ R. Consden, A. H. Gordon und A. J. P. Martin, Biochemic. J. 38, 224 (1944); 41, 590 (1947).
 - ¹⁷ S. M. Partridge, Biochemic. J. 42, 238 (1948).
 - ¹⁸ W. Friedrich und K. Bernhauer, Z. Naturforsch. 9b, 685 (1954).
- Abb. 1. Papierchromatogramme verschiedener Vitamin- B_{12} -Arten.
Vgl. dazu die Tabellen 2 bis 7. Erklärung im Text.
- Abb. 2: Diffusionsversuche mit B_{12} -Faktor III in wassergesättigtem sek. Butanol mit verschiedenen Konzentrationen an camphersulfonsaurem Natrium.
- Abb. 3: Diffusionsversuche mit Vitamin B_{12} im gleichen Medium wie in Abb. 1 mit verschiedenen Konzentrationen an Kaliumperchlorat.
- Abb. 4: R_F -Werte von drei Vitamin- B_{12} -Arten im Papierchromatogramm mit verschiedenen Konzentrationen an camphersulfonsaurem Natrium in wassergesättigtem sek. Butanol als Entwickler.

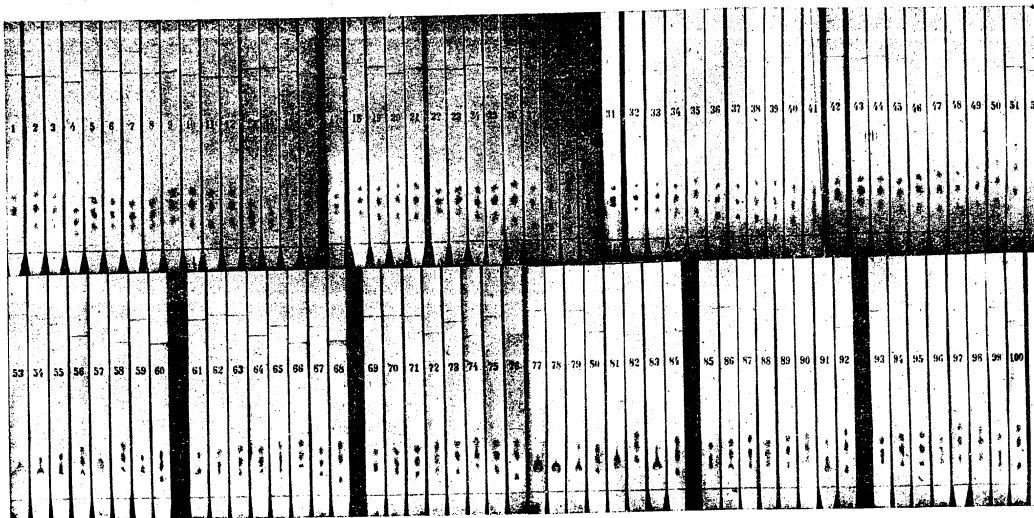


Abb. 1 oben.

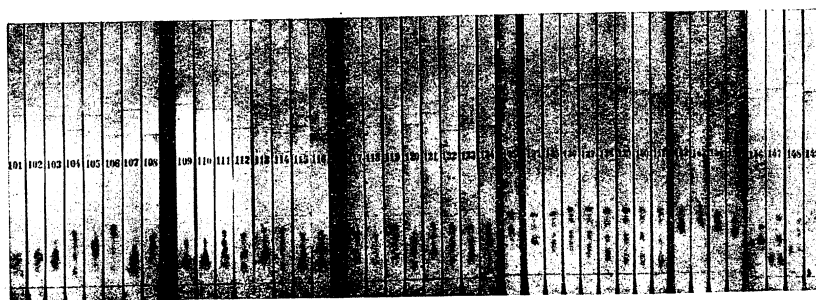


Abb. 2 unten.

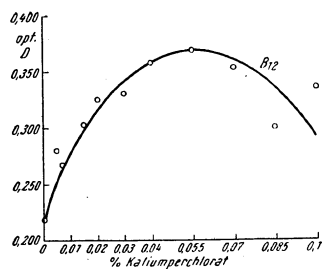


Abb. 3.

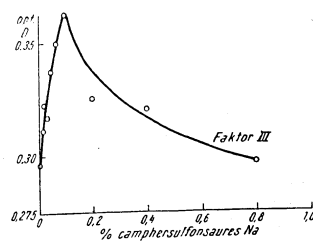


Abb. 4.

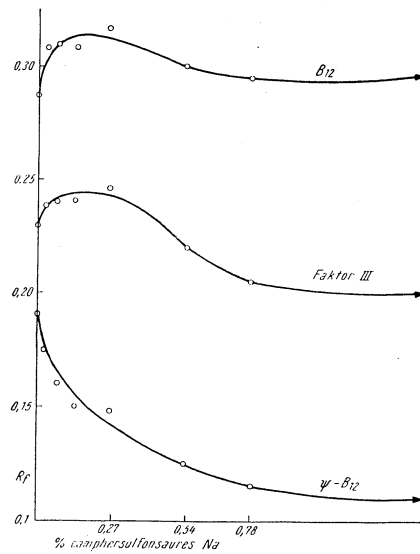


Abb. 4.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/10.

Zeilenanzahl: 488.

Contribution from E. I. du Pont de Nemours & Company, Inc., Polychemicals
Department, Wilmington, Delaware, U. S. A.

Identification of Organic Compounds by Microscopy and X-Ray Diffractometry.

By

John Mitchell, Jr., and Ada L. Ryland.

With 9 Figures.

(Received March 14, 1955.)

The light microscope is being used in an increasing number of methods for the identification of organic compounds. Actually the several different techniques employed fall into one of three general fields: (1) methods based on crystal habit, i. e., external appearance; (2) methods based on fusion techniques; and (3) methods based on measurements of optical crystallographic constants.

Crystal habit has been proposed as the basis of methods for identifying a variety of organic compounds¹. In most cases, however, this approach is of limited value. Either the crystals formed are not specific for a particular compound or the crystallization process is not strictly reproducible. One of the important exceptions is the test for acetic acid which forms distinctive yellow isometric tetrahedra on reaction of the sodium salt with uranyl nitrate.

The widely applicable fusion techniques for identifications of organic compounds are based on the pioneering work of Professors *L.* and *A. Kofler* and their associates². Among the many applications of their well-designed hot stage are determinations of:

- (1) Simple melting points.
- (2) Mixed melting points.
- (3) Eutectics and phase diagrams.
- (4) Polymorphism.
- (5) Transition temperatures of hydrates.
- (6) Addition compounds.
- (7) Mixed crystal systems.
- (8) Refractive indexes of melts.
- (9) Molecular weights by cryoscopy³.

The third field employs the petrographical microscope for the direct measurement of optical crystallographic constants. Several primary and secondary properties of anisotropic crystals can be determined which provide absolute proof of identification. Most of these are derived from studies of interference figures. An examination of an interference figure, such as that of muscovite, Fig. 1, will reveal the following information:

Figure 1.

- (1) Type of figure — uniaxial or biaxial. The example shown is biaxial.
- (2) Orientation — in a uniaxial crystal perpendicular, parallel, or inclined to the optic axis and in a centered biaxial crystal B_{2d} , if the section is normal to the acute bisectrix, or B_{2o} , if normal to the obtuse bisectrix.
- (3) Optic axial angle — the familiar maltese cross of a uniaxial crystal, $2H$ or $2E$ of a biaxial crystal depending on whether an oil immersion or air objective is used. This is one of the most important and useful constants. The microscope is calibrated for optic axial angle measurement preferably with the aid of an Abbé apertometer⁴.
- (4) Optic character — plus or minus depending on the motion of the

interference rings in opposite quadrants of the interference figure when a variable thickness quartz wedge, selenite or muscovite plate is moved across the field (see Fig. 2).

(5) Dispersion of the optic axes or dispersion of the bisectrices.

(6) Primary refractive index directions. Once the directions and identity of the indexes have been established on a particular section, the absolute value of the index may be determined conveniently by the immersion method with the aid of the familiar *Becke* line test.

Methods for measuring these properties have been reported in a few texts and publications^{1, 4, 8}. The important use of interference figures in assigning refractive index directions has not been described adequately having been mentioned only briefly in a few texts^{5, 6, 8-10}. It seems advisable to review this technique since measurements made from the assignment are the true values. In Fig. 2 is shown the motion of the isochromatic

Figure 2.

curves on movement of a quartz wedge inserted thin end first in the tube slot above the microscope objective¹⁰. Their direction establishes optical character and the principal refractive index positions. This observation can be made on crystals covered by the immersion liquids. Where possible this approach should be used in preference to the extinction or trial and error methods.

Several applications of microscopy have been reported for identifications of organic compounds via crystallographic measurements. These include 3,5-dinitrobenzoates for alcohols¹¹; 2,4-dinitrophenylhydrazones for aldehydes and ketones^{4, 11, 12}; p-bromoanilides for carboxylic acids^{13, 14}; picrates for amines^{4, 15}; and miscellaneous compounds^{4, 16, 17}.

The major uncertainty in the use of the microscope for identification purposes is the availability of crystals which exhibit the proper orientation. Crystals which melt without decomposition can be examined as thin films from fusion or as crystals obtained on recrystallization. In the latter case the crystals usually are mounted in an inert liquid medium of high refractive index, such as Canada balsam.

The x-ray diffractometer supplies the basis for an increasingly important alternate method for identifying crystalline organic materials. Each chemical compound has a distinct x-ray pattern, characterized by the spacing of the reflections and their relative intensities. For identification purposes the powder method is most useful^{18, 19}. The sample, of course, must be very finely divided to assure random orientation which will lead to clearly defined x-ray patterns containing every possible reflection.

This like other instrumental methods is most conveniently handled as a comparison method. A system has been set up based on the use of diffraction angles of the three strongest lines²⁰⁻²². X-ray data can be collected either photographically or instrumentally through use of equipment for measuring intensities, such as a Geiger counter together with recorder. The latter is more convenient and better suited for identifications.

Among the reports on the use of x-ray diffraction for identifications are direct examination of fatty acids²³, fatty acid derivatives²⁴⁻²⁶, 2,4-dinitrophenylhydrazones²⁷⁻³², alcohol derivatives^{29, 33, 34}, and miscellaneous compounds^{17, 35-38}.

Both the petrographical microscope and x-ray diffractometer, therefore, provide important crystallographic data. They should be considered as supplementary tools for identifying crystalline materials. In laboratories where both are available the following scheme is proposed. The crystals are first examined by microscopy. If proper orientations can be found conveniently, identification can be made in a few minutes. If, however, clear measurable interference figures are not observed, the crystals are examined by x-ray diffractometry.

Most investigators consider the use of the microscope and x-ray diffractometer exclusively for qualitative analysis. Consequently an important application has been largely overlooked, that of the use of constants of mixed crystal systems for semiquantitative analyses as well as identifications. The present paper describes x-ray studies of mixtures of the p-bromoanilides of acetic and propionic acids and also of the 2,4-dinitrophenylhydrazones of acetaldehyde and propionaldehyde. The results are

compared with microscopic data reported previously and verified in the current investigation.

Experimental.

Materials. — The organic chemicals were obtained from Eastman Kodak Co. with two exceptions. Glacial acetic acid was made by E. I. du Pont de Nemours & Co., Inc., and thionyl chloride was purchased from Matheson, Coleman, and Bell Co.

Preparation of Derivatives. — The p-bromoanilides (pBA's) were prepared from the corresponding acids (as the acyl chlorides) and p-bromoaniline by the method of Robertson³⁹ as modified by Kuehn and McElvain⁴⁰. After recrystallization from absolute ethanol, the propionic pBA melted at 147.1° C. An ethanol solution of the acetic pBA was treated with activated charcoal, filtered hot and allowed to crystallize. Its melting point was 168.6° C as determined on a calibrated Dennis-Parr melting point bar. Bryant¹³ reported melting points of 147.0° and 168.8° C, respectively.

The 2,4-dinitrophenylhydrazones (2,4-D's) were made by the method of Brady⁴¹ using 2,4-dinitrophenylhydrazine in alcoholic solution containing sulfuric acid. The derivatives were recrystallized from ethanol. Several recrystallizations from absolute ethanol and 60% ethanol were necessary to raise the melting point of the acetaldehyde derivative from 148.5° C to 168.2° C. This compares to a value of 168.5° C reported by Bryant¹¹. The propionaldehyde 2,4-D melted at 155.7° C after several recrystallizations from absolute ethanol. The melting point of the propionaldehyde derivative was reported to be 155° and 156° C by Brandstätter⁴² and Bryant¹¹, respectively.

Aqueous 2,4-dinitrophenylhydrazine reagent was used to facilitate preparation of a quantity of pure acetaldehyde 2,4-D. The reagent was made conveniently by preparing a hot saturated solution of the hydrazine in 6 N HCl. The clear supernatant liquid was decanted and the solution was allowed to cool. The yellow crystals of the hydrochloride were collected and dissolved in 3 N HCl. The derivative made using the aqueous reagent was recrystallized twice from absolute ethanol and melted at 168.6° C.

Microscopic Examination. — The derivatives were prepared and examined by techniques published previously^{4, 11, 12}. Other petrographical microscopes equipped with Bertrand lens and 1.9 mm, 1.25 N. A. oil immersion objectives could have been used in place of the Bausch and Lomb LD microscope employed in these studies.

Preparation of Samples for X-Ray Examination. — Mixtures of the derivatives were made by weight and transferred to small Pyrex test tubes. The p-bromoanilide mixtures were fused over a micro burner and quenched in a dry ice-methanol bath. Because of the greater sensitivity of the 2,4-dinitrophenylhydrazones to heat, these samples were fused carefully using an oil bath and quenched in dry ice-methanol.

The pure materials were examined both as prepared and after fusing and quenching in the same manner as the mixtures.

All the samples for x-ray examination were ground in an agate mortar to pass 400 mesh. The small particle size was necessary to prevent establishment of preferred orientation in the samples. The powders were packed from the back into aluminum sample holders in a manner similar to McCreery's technique described by Klug and Alexander¹⁸. The technique involves packing the powder against a glass slide and subsequently removing the slide to leave a flat, unsmear surface.

In some cases it was difficult to prepare a smooth sample surface by packing against a glass slide because the derivatives adhered to the glass when the slide was removed. In such cases the sample was packed against a flat block of du Pont "Teflon"® tetrafluoroethylene resin. The non-

* Registered U.S. Trade-mark.

sticking properties of this material make it ideal for the purpose. This plastic is readily machined to give the necessary flat surface.

X-Ray Examination. — X-ray diffraction patterns were obtained using a North American Phillips Wide-Range Geiger counter diffractometer. A Norelco x-ray diffraction tube with a copper target was used to

obtain the p-bromoanilide patterns. The tube was operated at 30 KV and 20 ma., and a nickel filter served to isolate the copper K_α wavelength. A chromium target Norelco tube was used for study of the 2,4-dinitrophenylhydrazones. This tube was operated at 30 KV and 10 ma. and the Cr K_α wavelength was isolated by means of a metallic vanadium filter.

The scanning rate of the Geiger counter was 1°/min. The output of the counter was amplified and recorded on a strip chart which travelled at 30"/hr. (about 76 cm/hr.) For most of the work a 1° divergence slit, 1° scatter slit, and 0.006" (about 0.15 mm) receiving slit were used. To check precise "d" spacings at low angles, 1/2° divergence and scatter slits were used. These conditions do not give the ultimate speed or resolution¹⁸, but they do provide a satisfactory combination of speed, resolution and intensity, and are commonly used in the authors' laboratories for identification work.

The scaling circuit of the recorder was set to give 480 counts per second full scale on the strip chart. Peaks with greater intensities were rescanned with a higher scale factor. The time constant was 2 seconds.

The pBA samples were scanned from 2° to about 40° (2 θ), while the 2,4-D samples were scanned from 2° to about 60°. The upper limits correspond to "d" spacings of about 2.25 for copper and chromium radiation, respectively. The diffractometer was calibrated with a silicon standard for each wavelength and the recorded "d" spacings were corrected accordingly.

Discussion.

Acetic and Propionic p-Bromoanilides (pBA).

A. Microscopy.

Microscopic studies of pure acetic and propionic p-bromoanilides revealed that the former exists in a stable form plus at least two metastable modifications¹³. One metastable form (II) is the first solid phase crystallizing from warm solutions of benzene, chloroform, acetic acid, and ethanol. The II form also is observed in films immediately after fusion. Within a short period the II modification is transformed into the stable form (I). On rapid quenching of the melt a second metastable form (III) is observed. Propionic p-bromoanilide exists in at least two forms in which the metastable II modification is observed in the solid from rapidly quenched melts.

Studies of mixtures of the two derivatives indicated that a mixed crystal system is formed composed of acetic III and propionic II. Above 20% of the latter a continuous marked change in physical properties was observed. For example, the optic axial angle varied with composition as shown in Table I where measurements were made at five conveniently isolated mercury lines¹³.

Table I. Optic Axial Angle for the System: Acetic-Propionic pBA.

Wt. % Propionic Derivative	Optic Axial Angle, α $2H_a$ (Positive)				
	4538 Å	5461	5780	6234	6903
100.0	98°	78°	73°	64°	58°
89.4	96°	76°	70°	63°	55°
79.8	94°	70°	63°	54°	44°
70.0	93°	66°	59°	50°	34°
50.2	84°	56°	46°	27°	(22°) ^b
43.1	84°	50°	40°	18°	(32°)
30.1	77°	36°	15°	(33°)	(46°)
21.3	62°	(23°)	(38°)	(45°)	(55°)

^a Precisions $\pm 3^\circ$, throughout.

^b Parentheses indicate axial plane $\perp$ to positon for blue radiation.

Fig. 3 shows a plot of optic axial angle versus composition at each of Figure 3.

the five wavelengths. These data are of direct value for identification and semiquantitative analysis. Of course, the results can be plotted in other ways to obtain additional useful information. Thus, the wavelength at

which the optic axial angle is zero (uniaxial) can be plotted as a function of composition (Fig. 4). A plot of this type is of particular value when a calibrated monochromator is available.

Figure 4.

B. X-Ray Diffractometry.

The principal "d" spacings of the p-bromoanilide mixtures and pure derivatives are listed in Table II. The fused and quenched mixtures, as suggested by Bryant¹³, are solid solutions of the propionic II form and (presumably) the acetic III modification. These two forms do not appear

Table II. Principal "d" Spacings and Intensities of Acetic-Propionic p-Bromoanilide System.

Wt. % Propionic Derivative	A	B	C	D ^a
0.0 (Acetic I) ..	3.42 (100)	3.67 (76) ^b	4.72 (63)	6.51 (6)
1.1	4.07 (100)	3.52 (97) ^b	5.77 (35)	11.65 (22)
5.4	3.51 (100) ^b	4.06 (80)	5.73 (46)	11.41 (29)
10.0	4.06 (100)	3.52 (77) ^b	5.73 (47)	11.44 (29)
20.0	4.70 (100) ^b	4.06 (100)	3.63 (98) ^b	11.44 (30)
29.9	3.64 (100) ^c	5.62 (50) ^b	5.50 (34) ^b	5.62 (50) ^b
40.0	3.65 (100)	5.60 (35) ^b	5.48 (27) ^b	7.56 (8)
50.0	3.68 (100)	5.60 (29) ^b	5.24 (24) ^b	10.52 (8)
60.1	3.70 (100)	5.25 (26) ^b	5.61 (25) ^b	10.52 (5)
69.9	3.73 (100)	5.62 (35) ^b	5.30 (29) ^b	10.62 (4)
80.0	3.74 (100)	5.59 (19) ^b	5.28 (17) ^b	7.80 (4)
89.3	3.76 (100)	5.60 (25) ^b	3.28 (23) ^b	7.80 (6)
Propionic II ...	3.78 (100)	3.53 (44) ^b	5.05 (30)	7.91 (6)
Propionic I	4.75 (100)	3.53 (97) ^b	3.63 (90) ^b	10.64 (32) ^b

^a Longest spacing.

^b Intensity values do not represent the true intensity of the peak because of contributions from overlapping reflections. Intensities were measured from background to the maximum of the peak.

^c Probably a combination peak of several closely spaced reflections which were not resolved.

to be isomorphous. The authors were not able to obtain x-ray patterns of the acetic II and III pBA's because these modifications reverted to the stable form very rapidly. In an attempt to obtain the pattern of the acetic III form, a sample was quenched and a powder photograph was taken in a 57.3-mm Phillips x-ray camera. About thirty minutes elapsed from the quench time until the end of the exposure, and the pattern showed primarily the stable form. The mixture containing 1.1% propionic pBA gave an x-ray pattern distinctly different from the acetic I form, and the authors believe that this approximates the pattern of the acetic III modification. The phenomenon of stabilization of a metastable modification by a small amount of impurity is not uncommon. The propionic II form was comparatively quite stable. Its x-ray pattern did not change over a twenty-four hour period.

Mixtures containing 30% or more of the propionic derivative crystallized in the propionic II form. The patterns were virtually identical except for a slight increase in the principal "d" spacing as the concentration of propionic pBA increased. The values are plotted in Fig. 5. Although the change was only 0.14 Å, the angular shift was about 0.5° 2θ

Figure 5.

using Cu K α radiation. Identification and semiquantitative estimation of the compositions of mixtures can be made based on this shift. Estimation would be facilitated, however, by lowering the scanning speed to reduce measuring errors. The angular variation could also be increased by the use of longer wavelength radiation. In preliminary studies on this system, the authors used chromium radiation because of its greater dispersion, but an undesirable high background scattering was observed which was probably caused by the bromine atom. This would probably not interfere, however, with semiquantitative estimates of composition, and more reliable results could be obtained.

Mixtures containing less than 30% propionic pBA crystallized in

the acetic III form. These patterns differed greatly in the intensities of the reflections, although the "d" spacings were much the same. The spacing of 4.06 Å appears between 0 and 20% propionic pBA. The intensity ratio of the 4.06 Å peak to that of the 3.63 Å peak which occurs in all mixtures is plotted in Fig. 6. This ratio should offer a possibility

Figure 6.

for semiquantitative estimation of the composition if care is taken to avoid preferred orientation.

The x-ray results correspond very well with the optical data. In the region of 30 to 100% propionic pBA where the optic axial angle increases gradually, the x-ray data show the same crystal structure with gradually increasing spacings. The sharp break in the optic axial angle plot at about 30% surely reflects the change in structure observed in the x-ray patterns.

Acet- and Propion-2,4-Dinitrophenylhydrazones (2,4-D).

A. Microscopy.

Acet- and propion-2,4-D's also form a mixed crystal system. Like the pBA mixtures certain of the optical properties vary with composition⁴. This is evident from Fig. 7 which shows a plot of optic axial

Figure 7.

angle versus per cent propionaldehyde. It is interesting to note that with this system also crossed axial plane dispersion is observed, permitting a plot of wavelength of uniaxiality versus composition (Fig. 8).

Figure 8.

For semiquantitative analyses these microscopic data are limited to the range from 0 to about 40% propionaldehyde. Higher concentrations have no marked effect on optic axial angle. The abrupt change in the neighborhood of 80% propion-2,4-D suggests a phase change. This is not borne out by the x-ray data, however.

B. X-Ray Diffractometry.

The principal spacings of the 2,4-D mixtures and pure derivatives are listed in Table III. The fused and quenched mixtures are solid solutions of the acetaldehyde (II) 2,4-D and the propionaldehyde derivative, which are isomorphous. A fused and quenched sample of propionaldehyde 2,4-D showed the presence of some of the spurious II form, but this was not observed in the patterns of any of the mixtures. Spacings of the acetaldehyde 2,4-D which melted at 148.5°C were identical with these of form I (m. p. 168.6°C).

Table III. Acet-Propion-2,4-Dinitrophenylhydrazone System: Principal "d" Spacings and Intensities.

Wt. % Propionaldehyde Derivative ^a	A	B	C	D ^b
0 (Acet I)	9.41 (100)	4.72 (17)	3.23 (17)	9.41 (100)
0 (Acet II) ...	3.22 (100)	9.22 (71)	5.42 (17)	9.22 (71)
10	3.22 (100)	9.33 (66)	5.46 (15)	9.33 (66)
20	3.23 (100)	9.42 (90)	5.50 (18)	9.42 (90)
30	3.24 (100)	9.48 (71)	5.54 (13)	9.48 (71)
35	3.24 (100)	9.53 (81)	5.56 (16)	9.53 (81)
40	3.24 (100)	9.54 (80)	5.58 (17)	9.54 (80)
50	3.24 (100)	9.57 (89)	5.61 (16)	9.57 (89)
60	3.25 (100)	9.60 (80)	5.65 (15)	9.60 (80)
70	3.25 (100)	9.63 (74)	5.68 (12)	9.63 (74)
80	3.25 (100)	9.63 (70)	5.70 (10)	9.63 (70)
85	3.26 (100)	9.64 (80)	5.72 (15)	9.64 (80)
90	9.64 (100)	3.26 (90)	5.74 (18)	9.64 (100)
100	3.26 (100)	9.66 (98)	5.77 (22)	9.66 (98)

^a Bell²⁷ studied mixtures containing 25% and 2% propionaldehyde 2,4-D and observed similar changes, but reported no "d" spacings for comparison.

^b Longest spacing.

Fig. 9 shows the changes in two of the "d" spacings with composi-

tion. Although most of the change in the longest spacing occurs below 40% propionaldehyde 2.4-D, the change in the shorter spacing shows almost a straight line relationship. These two spacings should permit estimation of the composition of mixtures with reasonable accuracy.

Again, the agreement between the x-ray and optical data is remarkable. The optical data seem to reflect primarily the variation in the longest spacing, since the major change in optic axial angle occurs below 35% propionaldehyde 2.4-D. No major effect is observed in the x-ray patterns to correspond to the break at 82.5 per cent in the optical data, but above this composition there is an indication that some of the propionaldehyde 2.4-D may be present as a distinct phase.

The above discussion of the microscopic and x-ray diffractometric properties of mixed systems illustrates quite clearly the potential of these techniques. Doubtless other systems could be chosen which would display larger changes in a property with composition but few offer the numerous possibilities given by these polymorphs. In many cases other techniques, such as melting point, also could be used. The crystallographic data are often more positive than other constants, however, since they are unaffected by small concentrations of foreign materials.

Summary.

Primary and secondary crystallographic constants can be utilized conveniently for identifications of crystalline organic and inorganic materials by microscopy and x-ray diffractometry. Several specific properties can be measured under the petrographical microscope, including optic axial angle, character, dispersion, and in addition, refractive index directions can be established. The "d" spacings and their intensities as determined with the x-ray diffractometer serve to identify crystalline materials. The two instruments should be considered as supplementary tools for identifying crystals.

Both instruments supply a means for identification and semiquantitative analysis of mixed crystal systems. Data are presented for the systems: acetic-propionic p-bromoanilides and acet-propion-2.4-dinitro-phenylhydrazones.

Zusammenfassung.

Primäre und sekundäre kristallographische Konstanten können zur Identifizierung kristallisierter organischer und anorganischer Stoffe auf mikroskopischem Wege und durch Röntgendiffraktometrie gut herangezogen werden. Einzelne spezifische Eigenschaften können unter dem petrographischen Mikroskop gemessen werden, so der optische Achsenwinkel, der Charakter, die Dispersion. Außerdem kann man Angaben über den Brechungsindex erhalten. Die mit dem Röntgendiffraktometer bestimmten Netzebenenabstände „d“ und deren Intensitäten dienen zur Identifizierung kristallisierter Stoffe. Die beiden Instrumente sind als Hilfsmittel zur Erkennung von Kristallen anzusehen.

Sie bieten die Möglichkeit zur Identifizierung und halbquantitativen Analyse von Mischkristallsystemen. Daten für die Systeme Essigsäure-Propionsäure-p-Bromanilid und Acetaldehyd-Propionaldehyd-2.4-Dinitrophenylhydrazon werden mitgeteilt.

References.

- ¹ E. M. Chamot and C. W. Mason, Handbook of Chemical Microscopy, 2nd ed., Vol. II, New York: Wiley, 1940.
- ² L. Kofler and A. Kofler, Thermo-Mikro-Methoden zur Kennzeichnung organischer Stoffe und Stoffgemische. Innsbruck: Universitätsverlag Wagner, 1954.
- ³ M. Brandstätter, Mikrochem. 36/37, 291 (1951).
- ⁴ J. Mitchell, Jr., Analyt. Chemistry 21, 448 (1949).
- ⁵ N. H. Hartshorne and A. Stuart, Crystals and the Polarizing Microscope, London: Edward Arnold Co., 1934.
- ⁶ A. F. Rogers and P. F. Kerr, Thin-Section Mineralogy, New York: McGraw-Hill Book Co., 1933.
- ⁷ E. E. Jelley, J. Royal Microscop. Soc. 52, 93 (1942).
- ⁸ A. Johansson, Manual of Petrographic Methods, 2nd ed., New York: McGraw-Hill Book Co., 1918.
- ⁹ T. R. P. Gibb, Optical Methods of Chemical Analysis, New York: McGraw-Hill Book Co., 1942.
- ¹⁰ H. Rosenbusch and E. A. Wülfing, Mikroskopische Physiographie, 5th

- ed., Vol. I, Pt. 1, No. 1, Stuttgart: E. Schweizerbartsche Verlagsbuchhandlung, 1922.
- ¹¹ W. M. D. Bryant, *J. Amer. Chem. Soc.* **54**, 3758 (1932); **55**, 3201 (1933); **58**, 2335 (1936); **60**, 2814 (1938).
 - ¹² Braddock and co-workers, *Analyt. Chemistry* **25**, 301 (1953).
 - ¹³ W. M. D. Bryant, *J. Amer. Chem. Soc.* **60**, 1394 (1938).
 - ¹⁴ W. M. D. Bryant and J. Mitchell, Jr., *J. Amer. Chem. Soc.* **60**, 2748 (1938).
 - ¹⁵ J. Mitchell, Jr. and W. M. D. Bryant, *J. Amer. Chem. Soc.* **65**, 128 (1943).
 - ¹⁶ A. N. Winchell, *The Optical Properties of Organic Compounds*, 2nd ed., New York: Academic Press, 1954.
 - ¹⁷ W. C. McCrone and co-workers, *Analyt. Chemistry*, monthly reports.
 - ¹⁸ H. P. Klug and L. E. Alexander, *X-Ray Diffraction Procedures*, New York: Wiley, 1954.
 - ¹⁹ J. M. Bijvoet, N. H. Kolkmeier and C. H. MacGillavry, *X-Ray Analysis of Crystals*, New York: Interscience Publishers, 1951.
 - ²⁰ J. D. Hanawalt and H. W. Rinn, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **8**, 244 (1936).
 - ²¹ J. D. Hanawalt, H. W. Rinn and L. K. Frevel, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **10**, 457 (1938).
 - ²² L. K. Frevel, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **16**, 209 (1944).
 - ²³ F. B. Slagle and E. Ott, *J. Amer. Chem. Soc.* **55**, 4404 (1933).
 - ²⁴ K. Hess and H. Kiessig, *Chem. Ber.* **81**, 327 (1948).
 - ²⁵ F. W. Matthews, G. G. Warren and J. H. Michell, *Analyt. Chemistry* **22**, 514 (1950).
 - ²⁶ F. W. Matthews and J. H. Michell, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **18**, 662 (1946).
 - ²⁷ F. O. Bell, *Biochemic. J.* **35**, 312 (1941).
 - ²⁸ G. L. Clark, W. I. Kaye and T. D. Parks, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **18**, 310 (1946).
 - ²⁹ J. J. de Lange and J. P. W. Houtman, *Rec. trav. chim. Pays-Bas* **65**, 891 (1946).
 - ³⁰ T. Malkin and T. C. Tranter, *J. Chem. Soc. London* **1951**, 1178.
 - ³¹ B. E. Gordon and co-workers, *Analyt. Chemistry* **23**, 1754 (1951).
 - ³² F. W. Neuman and C. W. Gould, *Analyt. Chemistry* **25**, 751 (1953).
 - ³³ J. B. McKinley, J. E. Nickels and S. S. Sidhu, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **16**, 304 (1944).
 - ³⁴ G. G. Warren and F. W. Matthews, *Analyt. Chemistry* **26**, 1985 (1954).
 - ³⁵ L. L. Merritt, Jr. and co-workers, *Analyt. Chemistry* **22**, 519 (1950).
 - ³⁶ C. W. Gould and S. T. Gross, *Analyt. Chemistry* **25**, 749 (1953).
 - ³⁷ D. W. Moore and L. A. Burkardt, *Analyt. Chemistry* **26**, 1917 (1954).
 - ³⁸ H. S. Kaufman and I. Pankuchen, *Analyt. Chemistry* **26**, 31 (1954).
 - ³⁹ P. W. Robertson, *J. Chem. Soc. London* **115**, 1210 (1919).
 - ⁴⁰ M. Kuehn and S. M. McElvain, *J. Amer. Chem. Soc.* **53**, 1173 (1931).
 - ⁴¹ O. L. Brady, *J. Chem. Soc. London* **1931**, 756.
 - ⁴² M. Brandstätter, *Mikrochem.* **81**, 33 (1944).

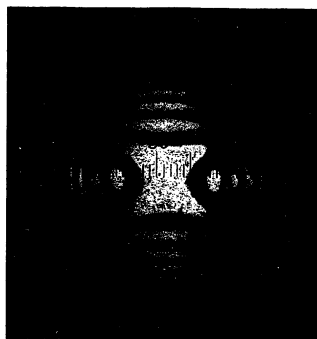


Fig. 1. Biaxial Interference Figure of Muscovite

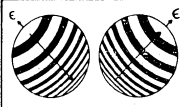
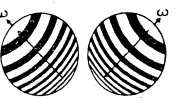
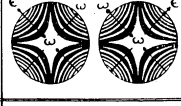
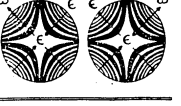
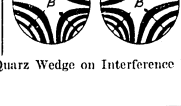
		MOVEMENT OF THE ISOCROMATIC CURVES	
POSITION OF CRYSTAL		OF POSITIVE CRYSTALS	OF NEGATIVE CRYSTALS
UNIAXIAL CRYSTAL	PERPENDICULAR TO THE OPTIC AXIS		
	INCLINED TO THE OPTIC AXIS		
	PARALLEL TO THE OPTIC AXIS		
BIAXIAL CRYSTAL	PERPENDICULAR TO THE ACUTE BISECTRIX		
	PERPENDICULAR TO THE OBTUSE BISECTRIX		
	PERPENDICULAR TO THE OPTIC NORMAL		

Fig. 2. Reflect of Quartz Wedge on Interference Figures.

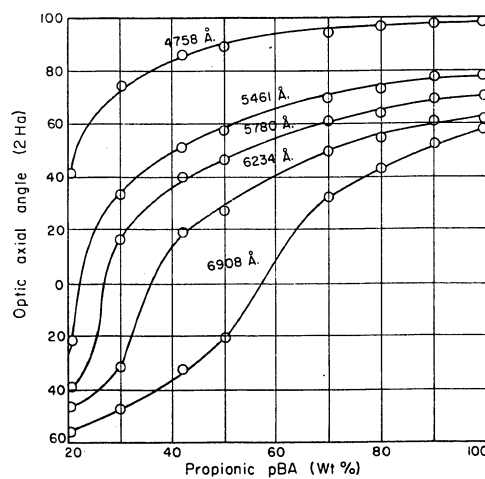


Fig. 3. Acetic-Propionic pBA System: Optic Axial Angle as Function of Composition for Several Wavelengths.

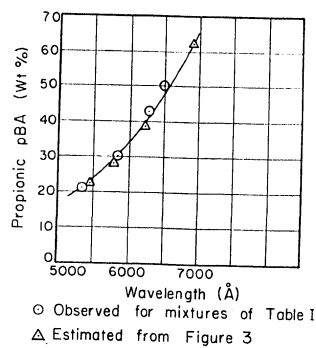


Fig. 4. Acetic-Propionic pBA System: Wavelength of Uniaxiality as Function of Composition.

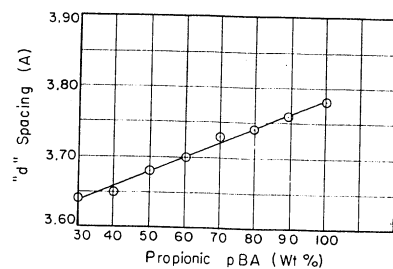


Fig. 5. Acetic-Propionic pBA System: Shift in Principal "d" Spacing With Composition.

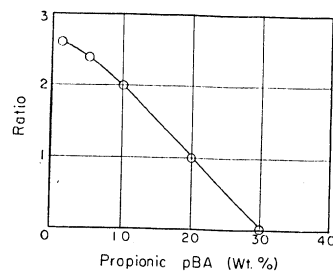


Fig. 6. Acetic-Propionic pBA System: Intensity Ratio (4.06/363 Å) as Function of Composition.

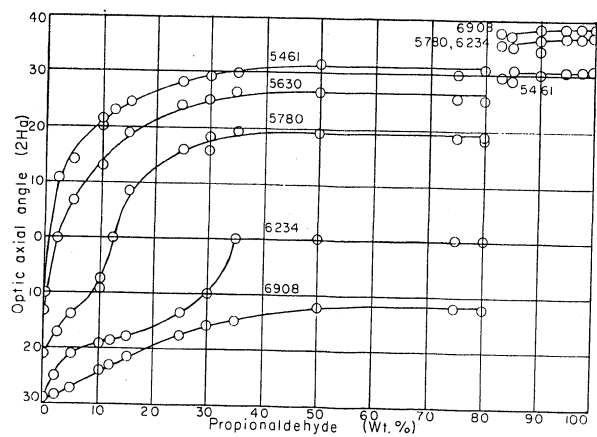


Fig. 7. Acet-Propion-2,4-D System: Optic Axial Angle as Function of Composition of Several Wavelengths.

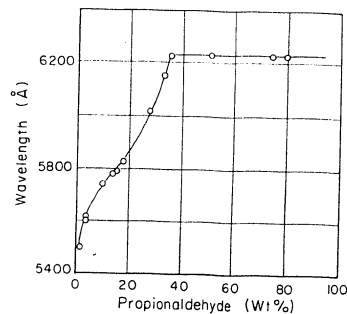


Fig. 8. Acet-Propion-2,4-D System: Wavelengths of Uniaxiality as Function of Composition.

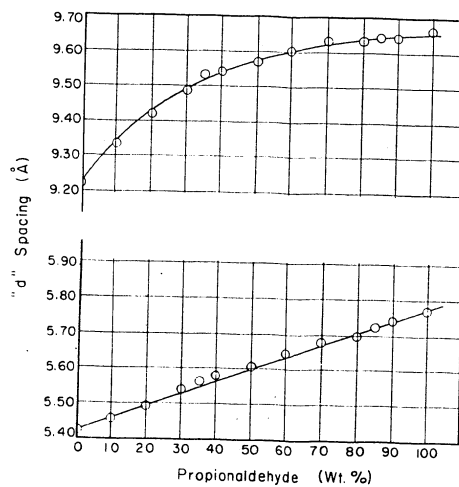


Fig. 9. Acet-Propion-2,4-D System: Shifts in 'd' Spacings with Composition.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/11.

Zeilenanzahl: 281.

L'utilisation des méthodes microanalytiques dans l'analyse des spécialités pharmaceutiques.

Par

Serge Simon, Bruxelles.

(Reçu le 16 mars 1955.)

Le Corps Pharmaceutique Belge, soucieux de vérifier la conformité des spécialités pharmaceutiques à la formule déclarée, a organisé très tôt leur contrôle et a équipé dans ce but un laboratoire dont la direction scientifique et technique est assurée exclusivement par des Pharmaciens. C'est de là qu'est sorti le Service de Contrôle des Médicaments de l'Association Pharmaceutique Belge. Depuis quelques années, ce laboratoire s'est développé rapidement et a étendu son champ d'investigation à tous les domaines qui touchent de près la nature des médicaments: chimie, physico-chimie, botanique, bactériologie et expérimentation animale notamment. Champ d'investigation très vaste, comme vous le voyez, mais qui s'explique si l'on songe que les médicaments peuvent être d'origine végétale, animale, minérale ou synthétique et qu'en outre des drogues provenant des origines les plus diverses sont couramment mélangées dans les spécialités. Inutile de vous dire que de tels mélanges ne peuvent manquer de nous poser des problèmes multiples et ardues pour la solution desquels les techniques les plus variées et les plus modernes s'avèrent nécessaires. Quelques-uns de ces problèmes portaient en eux, inéluctablement, le germe de l'utilisation des méthodes microchimiques:

D'abord certaines spécialités contenaient une si faible quantité de produit actif que leur contrôle en était rendu pratiquement irréalisable par les méthodes courantes.

Nous disposions par exemple d'une ou deux boîtes de 10 ampoules de 1 ml contenant chacune 3 mg de triméthylméthoxypropénylammonium bromide. On ne peut pas toujours exiger du fabricant un trop grand nombre de conditionnements.

Où bien encore, nous devions doser l'arsenic dans une poudre contenant 0,3 mg d'arsenite de potassium pour 325 mg soit 0,048% d'arsenic. Si on avait voulu appliquer un dosage classique, il aurait fallu minéraliser des quantités trop grandes de produit et perdre un temps précieux. Même problème pour le dosage de dragées à faible teneur en dionine, ou en aldéhyde nicotinique de la thiosemicarbazone.

En second lieu, des médicaments nouveaux, au sujet desquels la documentation était inexistante, ou d'autre part, des substances peu réactionnelles, faisaient apparaître la nécessité de disposer de méthodes précises et sûres pour la prise des constantes physiques ainsi que de méthodes d'analyse élémentaire et fonctionnelle vraiment pratiques. Lors de l'apparition des antihistaminiques par exemple, on ne disposait guère, pour leur dosage, que de l'estimation de l'azote ou des halogènes éventuels. Les curarisants de synthèse, fort peu réactionnels, sont le plus souvent dosés par leur taux d'azote ou d'halogène.

Enfin, devant l'affluence toujours plus grande des analyses, le laboratoire se trouvait dans l'obligation d'accroître son rendement par tous les moyens et cela malgré le fait qu'une analyse sur deux constitue un problème nouveau. Il fallait donc diminuer autant que possible notamment, le temps consacré à certaines opérations: prises du P. F., dosages du soufre ou de l'azote par exemple.

Les méthodes microchimiques semblaient promettre une réponse aux trois critères que nous venons d'énoncer; c'est pourquoi nous y avons recouru tout naturellement, et de plus en plus, depuis la fin de

la guerre. C'est ainsi que nous avons utilisé pour la prise du P. F., le capillaire d'abord puis, le banc et le microscope de *Kofler*; ce dernier appareil nous servant occasionnellement à prendre d'autres constantes physiques.

La microsublimation fractionnée a été utilisée avec intérêt dans certains cas.

La microscopie chimique et surtout les spots-tests ont supplanté dans nos laboratoires la plupart des méthodes classiques d'identification en tubes à essai; c'est dire leur énorme intérêt pour nous.

Autre méthode microchimique, la chromatographie, sur papier surtout, nous rend constamment de très grands services; elle permet en effet quantité de séparations dans les mélanges complexes les plus divers: extraits et teintures végétales ou mélanges de sulfamidés, par exemple.

Il est devenu classique pour nous de faire appel à cette technique chaque fois que les méthodes de séparation habituelles sont mises en défaut. La spectrophotométrie est évidemment, elle aussi, largement utilisée, tant dans un but qualitatif que dans un but quantitatif; ses principales qualités sont pour nous une relative spécificité et surtout une très grande sensibilité puisqu'on dose souvent de cette façon quelques microgrammes d'une substance.

D'autres techniques microchimiques comme la fluorométrie et la polarographie commencent à être mises à profit dans le contrôle des médicaments et le seront sans doute davantage dans l'avenir: par exemple le dosage des sels de quinine ou des vitamines B₁ et B₂ par fluorométrie.

Et ceci nous amène, pour compléter la revue des principales méthodes microchimiques utilisées en nos laboratoires, à vous parler de la micro-analyse élémentaire et fonctionnelle, la branche peut-être la plus typique et la plus spécialisée de la Microchimie.

Un département spécial y est consacré dans nos laboratoires depuis trois ans environ et je compte m'étendre davantage sur ce sujet qui constitue plus spécialement mon domaine.

Comme vous le savez les microméthodes nécessitent toujours une mise au point soignée, même si le mode opératoire en a été entièrement publié; elles ne sont donc vraiment intéressantes pour un laboratoire astreint à un sérieux rendement, que si elles sont fréquemment utilisées. C'est la raison pour laquelle nous nous sommes limités aux déterminations suivantes: Azote, Soufre, Halogènes, Arsenic, Phosphore, Manganèse, fonctions méthoxy et éthoxy ainsi que la Pénicilline G.

Nous pouvons, si vous le voulez, passer en revue les méthodes et les appareils utilisés à cette fin.

La pesée étant très souvent à la base des déterminations, il est normal de commencer par les balances.

Nous utilisons une semi-microbalance Sartorius au 0,01 mg pour les pesées de plus de 5 mg et une microbalance de même marque au 0,001 mg pour les quantités inférieures à 5 mg. Ceci maintient toujours l'erreur sur la pesée à moins de 0,5%.

Le laboratoire de microanalyse étant situé au sous-sol, nous n'avons pratiquement aucun ennui par suite des trépidations et ce, malgré un système de suspension très simple. L'excellent amortissement de ces balances ramène d'autre part, le temps d'une pesée à 5 ou 10 minutes selon les cas.

Pour la détermination de l'azote, nous avons choisi la méthode de *Dumas*, par suite de sa plus grande universalité. La source d'anhydride carbonique est une bouteille thermos contenant de la neige carbonique. Nous utilisons un compensateur de pression à mercure du type *Zimmermann* mais d'assez grande capacité, ceci pour nous permettre de mener à bien le dosage des mélanges ou substances à très faible teneur en azote. La combustion est réalisée par des fours électriques à déplacement automatique. Nous avons employé avec succès les rognures de cuivre métallique en lieu et place de l'oxyde de cuivre réduit dans un courant d'hydrogène, classiquement préconisé. Très peu de produits se sont avérés réfractaires à cette méthode.

Placés devant le choix d'une méthode de minéralisation en vue du dosage du soufre, nous avons finalement décidé d'utiliser les méthodes

de fusion, principalement en raison de leur grande souplesse quant aux prises de départ; on peut en effet partir de quelques mg dans la bombe de *Parr* à 500 mg dans la bombe de *Wurzburg*, ceci étant fort utile pour les faibles teneurs. Il n'existe guère de substances réfractaires à cette minéralisation, dans notre cas.

Le dosage des sulfates formés est poursuivi par la gravimétrie du sulfate de baryum sur creusets de porcelaine filtrante. C'est encore, à notre connaissance, la meilleure technique, du moins après la bombe. Il est néanmoins indispensable de travailler à l'échelle semi-microchimique et de peser au moins 20 mg de sulfate de baryum pour que les erreurs relatives demeurent inférieures à 2 à 3%.

Pour la détermination des halogènes, nous utilisons également — et pour les mêmes raisons — la minéralisation à la bombe de *Parr* ou de *Wurzburg*. Le dosage des chlorures se poursuit soit par gravimétrie soit surtout par potentiométrie; nous utilisons à cette fin un potentiomètre — pH mètre *Métrohm*, couplé avec deux électrodes d'argent, l'une libre, l'autre bloquée dans un liquide conducteur et ne communiquant avec la solution de titrage que par l'intermédiaire d'un capillaire; cette technique nous donne d'excellents résultats mais, en raison de la forte concentration saline provenant de la bombe, il est nécessaire de titrer avec des solutions de nitrate d'argent N/50 ou N/25, ce qui ramène plus ou moins à l'échelle semi-microchimique comme pour le soufre.

Les bromures formés sont, eux, transformés quantitativement en bromates par l'hypochlorite en milieu alcalin tamponné à chaud. Le chlore en excès est détruit par le formiate de sodium et il n'y a plus qu'à titrer iodométriquement les bromates par le thiosulfate N/50¹. Spécifique en présence de chlore, la méthode se caractérise par un excellent facteur de multiplication puisque chaque atome initial produit finalement six iodes. Elle est quantitative également pour l'iode.

Mais pour ce dernier halogène, nous employons surtout une technique décrite notamment par *Zimmermann*, qui est spécifique vis-à-vis du chlore et du brome. Après minéralisation à la bombe, les iodures formés sont oxydés à l'état d'iodates par le brome en milieu acide acétique — acétate de sodium. L'excès de brome est détruit par l'acide formique et on termine par une iodométrie. Ici encore, six atomes sont produits pour chaque atome initial.

En combinant ces diverses techniques, il est évidemment facile de résoudre n'importe quel mélange d'halogènes, chose fort utile dans notre cas.

Le problème du dosage de l'arsenic était particulièrement difficile en ce sens qu'il s'agissait le plus souvent de doser des traces de cet élément toxique dans des granulés, sirops etc. . . . et que, de plus, il était souvent accompagné de substances susceptibles de troubler son dosage: fer et phosphates par exemple dans les préparations reconstituantes.

Afin de pouvoir utiliser la microbombe ou, du moins de diminuer au maximum la durée de la minéralisation en partant de faibles prises, il était important de pouvoir estimer avec précision des quantités aussi petites que possibles d'arsenic.

Il était donc normal de penser à une détermination spectrophotométrique. Après la minéralisation à la bombe ou au mélange sulfoperoxydique, nous effectuons donc la spectrophotométrie du complexe arsénio-molybdique bleu: la courbe est une droite entre 10 et 80 μg d'arsenic². Malheureusement diverses substances troublent ce dosage et notamment le phosphore et le silicium. Dans ces cas, nous effectuons la détermination iodométrique directe des arsénates formés selon la technique de *Friedrich*. Mais les oxydants minéraux et notamment le fer perturbent cette méthode. Dès lors il est des cas où aucune de ces méthodes n'est directement applicable: cas assez fréquent par exemple de la présence simultanée de l'arsenic, du fer et du phosphore. Nous devons alors séparer l'arsenic par précipitation au réactif de *Bougault*³. Il suffit, après lavage, de redissoudre dans l'acide nitrique, d'évaporer à sec et de terminer par la spectrophotométrie ou l'iodométrie. Par la combinaison de ces diverses techniques nous parvenons ainsi à doser l'arsenic dans presque tous les médicaments.

Pour le phosphore et le manganèse nous avons recours à une minéralisation sulfoperoxydique. Le dosage est poursuivi par la spectrophotométrie du complexe phosphovanadomolybdique jaune⁴ ou du permanganate obtenu par la technique au persulfate⁵.

La détermination des fonctions méthoxy et éthoxy s'opère de la manière classique: arrachement du groupe alkyle par l'acide iodhydrique et distillation des iodures d'alkyle selon le procédé de *Zeisel*. Le dosage est poursuivi selon *Vieböck* et *Brecher* en recevant les iodures dans du brome et dosant enfin les iodates formés. Le laveur, toutefois, est garni d'une solution d'hydrate d'hydrazine comme le préconisent *Franzen*, *Hegemann* et *Disse*⁶. De plus, nous utilisons comme source d'anhydride carbonique, de la neige carbonique en bouteille thermos, comme pour le Micro-Dumas.

Le département de microanalyse exécute encore les déterminations de la Pénicilline G selon U.S.P. XIV ainsi que des dosages d'humidité et de cendres à l'échelle microchimique.

Toutes ces microméthodes sont, comme vous le savez, très rapides et très précises. L'erreur relative est toujours inférieure à 3% sauf dans le dosage de l'arsenic lorsqu'il est nécessaire de le séparer au préalable. La durée du travail effectif ne dépasse 50 minutes que dans ce même cas ainsi que lors du dosage des fonctions méthoxy et éthoxy.

Et ceci nous amène à noter le gain de temps obtenu chaque fois qu'il est possible de travailler à l'échelle microchimique plutôt qu'à l'échelle semi-microchimique. Si cette remarque perd de sa force pour la gravimétrie et la potentiométrie, elle est par contre nettement d'application en ce qui concerne le Micro-Dumas, le micro-méthoxy et toutes les méthodes qui passent par une minéralisation sulfoperoxydique. Ainsi par exemple, pour la codéine, le temps de distillation, lors du dosage du méthoxy, est de 2 à 4 heures à l'échelle semi-microchimique; il peut être ramené à 50 minutes à l'échelle microchimique.

La difficulté principale pour nous, vient du fait que nous devons effectuer assez souvent de véritables analyses de traces en raison de la faible teneur du médicament en produit actif contenant l'élément à doser. Cela suppose bien souvent une minéralisation semi-micro ou même carrément microchimique qu'on doit faire suivre d'une détermination, elle, vraiment microchimique avec l'inconvénient que comporte l'énorme quantité de matière minéralisante nécessaire (peroxyde de sodium, acide sulfurique etc. . .) et la présence des autres constituants du médicament ainsi que de leurs impuretés propres.

Pour vous donner une idée de l'importance croissante des méthodes microanalytiques dans le contrôle des médicaments, nous vous donnons seulement la statistique des microdosages élémentaires et fonctionnels effectués au cours de ces dernières années:

1952: 72 (année de départ)

1953: 430

1954: 522

Une progression similaire a été notée dans presque tous les domaines d'application de la microchimie au contrôle des médicaments et l'on peut dire que ces méthodes tendent à supplanter progressivement chez nous bien des méthodes classiques.

Par les multiples possibilités qu'elle nous a apporté, travail sur des prises très faibles, déterminations élémentaires et fonctionnelles pratiques, économie substantielle de temps, la pratique de la microchimie a signifié pour nous, un sérieux accroissement des possibilités d'investigation et en outre une augmentation appréciable du rendement général.

Elle est devenue incontestablement un outil indispensable au service du contrôle des médicaments.

Résumé.

Le but et l'origine du Service de Contrôle des Médicaments de l'Association Pharmaceutique Belge sont d'abord évoqués brièvement. Les problèmes posés à ce laboratoire conduisaient tout naturellement à l'utilisation de la plupart des méthodes microanalytiques. L'article se poursuit par une revue des différentes techniques utilisées en s'étendant

davantage sur l'analyse élémentaire et fonctionnelle. Il décrit ensuite les méthodes spéciales utilisées à cette fin et dont le choix a été orienté par les conditions particulières à l'analyse des médicaments: analyses de traces par exemple. L'échelle microchimique s'est souvent avérée plus intéressante que l'échelle semi-microchimique. L'exposé se termine par une statistique montrant l'importance croissante de ces méthodes dans le contrôle des médicaments.

Zusammenfassung.

Über die Aufgaben des „Service de Contrôle des Médicaments de l'Association Pharmaceutique Belge“ wird kurz berichtet. Diese führten natürlich zur Anwendung einer Reihe von mikroanalytischen Methoden. Die Übersicht über die verschiedenen angewandten Verfahren erstreckt sich auf die Elementaranalyse und die Bestimmung der funktionellen Gruppen. Hierbei werden die für die Arzneimittelanalyse besonders geeigneten Methoden, z. B. die Spurenbestimmungen, beschrieben. Der Mikromaßstab erwies sich hierbei oft als zweckmäßiger im Vergleich zum Halbmikromaßstab. Schließlich wird mit einer Statistik die steigende Bedeutung dieser Methoden für die Arzneimittelkontrolle gezeigt.

Summary.

The object and the origin of the Service de Contrôle des Médicaments de l'Association Pharmaceutique Belge are discussed briefly. The problems presented to this laboratory lead quite naturally to the use of the majority of the microanalytical methods. There follows a review of the various techniques employed in extending these to functional and elementary analyses. A description is given of the special methods used for this purpose. The choice of such procedure is dictated by the conditions imposed especially in the analysis of medicinals, such as the determination of traces. The microchemical scale often proves to be more interesting than the semimicro scale. The paper concludes with statistics showing the growing importance of these methods in the inspection of medicinals.

Bibliographie.

- ¹ L. M. White et M. D. Kilpatrick, *Analyt. Chemistry* **22**, 1049 (1950).
- ² G. Charlot et R. Gauguin, *Dosages colorimétriques*. Paris: Masson, 1952, p. 107.
- ³ O. P. Case, *Analyt. Chemistry* **20**, 902 (1948).
- ⁴ T. S. Ma et J. D. McKinley, Jr., *Mikrochim. Acta* [Wien] **1953**, 4.
- ⁵ G. Charlot et R. Gauguin, *l. c.*, p. 177.
- ⁶ Fr. Franzen, W. Hegemann et W. Disse, *Mikrochem.* **39**, 277 (1952).

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/12.

Zeilenanzahl 281.

Research Laboratory, L. Oertling Limited, St. Mary Cray, London, England.

Microchemical Balance Design.

By

G. F. Hodsman.

(Received March 11, 1955.)

Introduction.

It is often said that microchemical balance design has progressed but little since the time of *Emich* and *Pregl*, working with the early Kuhlmann balance. The balance to-day still uses a beam, an arrestment mechanism, a rider and is housed in a case—all of which, at first sight, are not greatly dissimilar from the practice current at the beginning of the century.

The truth, in fact, is very different. At the last Microchemical Congress in Graz in 1950, reference was made¹ to several developments in microchemical balance design and further progress has been made since that time. The purpose of this paper is to review current practice in the design of microchemical balances with particular reference to some important, but perhaps not obvious, developments which have taken place during the last five years. It is convenient to do this by dealing in turn with the various parts of the instrument.

Features of Design.

The microchemical balance has usually a capacity of 20g in each pan and a sensitivity of 1 microgram per scale division. Such a sensitivity involves a weighing accuracy of up to 1 part in twenty million—an accuracy which few instruments made to-day can achieve. This high accuracy presents the designer with a number of special problems and influences the design of almost every component.

(a) Beam.

The beam of a microbalance represents a series of compromises. The beam should desirably be long to attain a high sensitivity and stability but the longer the beam the longer will be the period of oscillation and the greater the tendency to flexure under load. The beam should desirably be as light as possible to give a high sensitivity and a short time-period, but then the rigidity of the beam suffers and the tendency to flexure is increased. In order to achieve the most efficient beam therefore, careful consideration must be given to the actual shape of the beam to ensure that so far as possible all parts of the material are uniformly stressed—for only in this way can maximum strength be obtained combined with minimum weight.

The development of photoelastic stress analysis has enabled the shape of balance beams to be studied during design. Models of proposed beam designs are cut from transparent plastic material and viewed in a polarimeter whilst being stressed in a loading frame which produces stresses comparable to those obtained in an actual balance during weighing. Analysis of the stress patterns produced shows where the beam section is insufficient, which would lead to flexure, and also where it is more than adequate, which would give a heavier and slower beam than necessary. Modifications to the plastic model are easily made and their effect speedily assessed. The use of this technique gives the modern microchemical balance a more efficient beam than was previously possible.

The choice of material for microbalance beams is governed by the

requirements of dimensional stability and corrosion resistance. Lacquering or plating is not to be recommended and the use of a material of proven stability and corrosion resistance is much to be preferred. One of the most successful materials is an alloy containing about 80% Ni and 20% Cr. This material has a long and successful record for microbalance beams and in addition to its stability it is free from ferromagnetic effects which ensures freedom from weighing errors due to stray magnetic fields.

The beam should be given a very high polish—not merely for decorative purposes—but mainly since a highly polished surface more readily resists corrosion and the retention of dust or dirt.

Beam design may be summarised as the provision of a stable corrosion resistant non-magnetic material formed into a shape giving a satisfactory compromise between strength and lightness. It is important to realise that as the weighing demands of the microchemist change, the design of the beam as a whole must change also, if maximum efficiency is to be retained.

(b) *Bearings.*

The accuracy of microchemical weighings is dependent very largely on the quality of the knife and plane bearings used in the balance. In this field some notable advances have been made in the last five years.

In order to achieve the highest standard of accuracy it is necessary to use a very sharp hard knife in conjunction with a very flat hard plane. Little need be said about the planes for their production is an optical polishing problem comparable with the manufacture of optical flats and the techniques are fairly well known. It is worth noting, however, that a balance plane must be flat when it is mounted and in use on the balance. Care must be exercised therefore in the method of mounting the planes to ensure that this does not lead to distortion of the flat surface. In the case of end-planes it is preferable to use them directly as stirrups rather than as insets in metal stirrups.

The design of knife-edges is less straightforward. No edge can be perfectly sharp and if sufficiently magnified would appear to be curved. Such a static examination is however of little value for it is the performance of the knife when loaded which determines the accuracy of weighings in practice. When a knife is placed in contact with a plane and loaded, the edge deforms and it is the value of the deformed radius of curvature which is of particular interest.

A method has now been developed² for determining the radius of balance knives under actual conditions of use. The use of this technique, combined with improved methods of edge production has resulted in a marked reduction in the radius of microchemical balance knives in recent years. The use of knives with a radius better than one micron under normal loading conditions is now standard practice and is a major factor in the improved performance which is given by modern instruments.

It is appropriate whilst considering knife edges to make a brief reference to the problem of their adjustment. The balance is a device for comparing moments and can only be used for the comparison of weights provided these are located at equal distances from the centre knife. This means that the distance of each end-knife in the beam from the centre knife must be equal to a high order of accuracy. For a balance carrying 20-g loads and capable of indicating micrograms—a positional accuracy of one part in twenty million must be achieved, which, on the usual 5" microbalance beam necessitates the knives being positioned to better than a millionth of an inch. Furthermore, once positioned, they must remain so fixed during the working life of the instrument. The care and skill with which this adjustment is made is of prime importance in determining the accuracy of the instrument and since this adjustment is of an order smaller than the wavelength of light the difficulties which face the adjuster can be appreciated.

(c) *Arrestment Mechanism.*

It is obvious that such delicate knives and planes must be kept out of contact except when actually in use for weighing. To do this some

form of arrestment mechanism, controlled by the operator must be used. The design of an arrestment mechanism must fulfil three main requirements. It must bring the knives and planes smoothly into contact to give a good "set-off", it must ensure that the end planes are reproducibly positioned on the end knives and it must give a clean break of contact between knives and planes on arrestment. Many designs are used but most to-day employ kinematically designed bearings for lifting the beam. Three jeweled points are used on the arrestment frame, working in jewel bearings of the plane, cone and Vee type. The mechanism should work smoothly without sticking and without undue "shake" and the manufacturer cannot pay too much attention to the workmanship in this mechanism for if it is not faultless in its operation all the care and skill which have been expended on adjustment of the knife edges in the beam will have been wasted.

(d) *Aperiodic devices.*

There has been in recent years some controversy concerning aperiodic microchemical balances. The growth of micro-methods has led, naturally, to a desire for more rapid weighing and there is no doubt that an aperiodic balance is very much quicker and less fatiguing to use than a free swinging instrument.

The fatigue involved in a protracted series of weighings on a slow free-swinging instrument is a significant factor in influencing the accuracy of the weighings for unless constant vigilance is exercised, errors arise in the recording and computing of the readings. The introduction of an aperiodic microgram balance at the Graz congress in 1950 therefore was generally welcomed by microchemists who were, nevertheless, sceptical of its ability to achieve the necessary accuracy. Extensive tests both before the introduction of the balance and by many chemists since then have demonstrated conclusively that the accuracy of microchemical weighings is not impaired by the use of correctly designed aperiodic devices.

In the last five years aperiodic microgram balances have steadily increased in favour and are rapidly supplanting free swinging instruments for most general purposes.

(e) *Case.*

An important feature of the modern microchemical balance is the separate beam compartment. A glass shelf is fitted horizontally across the middle of the balance case to isolate the beam the pans. When the doors of the balance case are opened there is inevitably an air disturbance and this is magnified by the insertion of a hand into the case. The provision of the isolation shelf ensures that these disturbances are not transmitted to the air surrounding the beam itself and this gives a higher stability and more reproducible weighing results.

(f) *Riders and the Riderless Balance.*

The use of riders on microbalances dates from the original Kuhlmann balance and it has been standard practice ever since. Riders and rider mechanisms have, however, been a source of trouble to both users and balance designers. The chemist has never liked the rider for it is tedious to operate and is easily dislodged. It requires constant care and vigilance in its use and there is always the suspicion that its weight may not be correct.

The designer, similarly, has little enthusiasm for the rider and various workers^{3, 4} have stressed its limitations. The design difficulties fall into 4 groups. Firstly errors arise due to the incorrect mass of the rider. The adjustment of small wire riders is not easy and an error of $5 \mu\text{g}$ in mass, which is not unusual, causes an error of $10 \mu\text{g}$ when moved along the length of the rider bar. Secondly there is the positional error. A simple calculation shows that a notching error of one thousandth of an inch will produce a reading error of more than $1 \mu\text{g}$. This is not merely a tolerance on each notch, but a tolerance on the distance from one end knife edge to each of the 101 notches. Thirdly, and closely allied to this, is the location error of the rider when it is lifted and replaced in the same notch.

Fourthly there are angular location errors due to the varying angles

which the rider can make with the notch as a result of friction between the rider and the rider bar. It can be shown that a change of only 1° in the angle between the rider and the rider bar can change the reading of the balance by as much as $5 \mu\text{g}$. *Corner* and *Hunter*⁵ as long ago as 1941, showed that a large proportion of microbalance errors are due to the third and fourth of these causes.

The rider problem has engaged the attention of balance designers for some time and many ingenious solutions have been tried but found wanting. It is evident that the most satisfactory solution is to eliminate completely the necessity for using riders on microchemical balances. The problem, however, is to find a satisfactory method of indicating increments of weight of up to 10 mg, which is achieved by the rider.

The difficulty has recently been overcome by a combination of ring weights and the calibrated projected scale and the riderless microgram balance is now a practical proposition. It has been made possible largely by the improvements in knife-edge design referred to above, which enable the beam to be operated through an increased angular range. The new riderless microgram balances represent a fundamental advance in design and enable microgram weighings to be made with a confidence not possible with rider balances.

Trends in Design.

The modern microchemical balance is a more accurate and more rapid instrument than its predecessor at the beginning of the century and it is appropriate to consider the present trends in design. Balance design is often stimulated by the changing and evolving requirements of the chemist and these can often therefore point the way in which design will move.

It has recently been evident that two quite opposite trends are developing. On the one hand, there is a growing interest in semi-micro methods, particularly for educational work for they offer several advantages in this field over micro methods. This development is focusing attention on balances with an accuracy of about 0.01 mg and with capacities of 50 g or 100 g. This field is not particularly well covered by present-day balances. Such instruments as are available tend to be either analytical balances giving only reliable fourth place weighings or microbalances capable of sixth place weighings and whose design is more elaborate and more expensive than is necessary. Balance designers are now becoming increasingly interested on fifth place balances and it is not unreasonable to expect developments in this field within the next few years. There is a growing demand for a robust, reliable fifth place balance, of simpler design than a microbalance and suitable for educational use and rapid routine weighings.

Conversely there is also increasing interest in more accurate weighing. Radiochemists, biologists and the new science of ultramicrochemistry are requiring weighings accurate to tenths and even hundredths of a microgram. The problems associated with the refinement of conventional microbalances to give this order of accuracy are indeed formidable and it is doubtful whether they can be solved in the foreseeable future — the frictional force between knives and planes is one example of the difficulties involved.

The development of quartz fibre torsion balances by *Kirk* and *Craig*⁶ and others has however opened up new possibilities for more accurate weighing and developments in this field can certainly be expected.

Summary.

Current design of microchemical balances is reviewed with particular reference to developments during the last five years. Problems of beam design are considered and the necessity of obtaining a satisfactory compromise between strength and lightness is emphasised. Improvements in bearings, particularly knife edges, are also discussed. Reference is made to the design of arrestment mechanisms and cases and to the growing popularity of aperiodic microbalances. The limitations inherent in the use of riders are considered and the recent introduction of the riderless microgram balance is described. The paper concludes with a brief mention of

current trends in design, referring particularly to the growing interest in both fifth place weighings and in higher precision weighing calling for accuracies of a tenth or a hundredth of a microgram.

Zusammenfassung.

Eine Übersicht über den derzeitigen Stand der Konstruktion mikrochemischer Waagen unter besonderer Berücksichtigung der Entwicklung in den vergangenen fünf Jahren wird gegeben. Probleme der Balkenkonstruktion werden erörtert und die Notwendigkeit eines zufriedenstellenden Kompromisses zwischen Stärke und geringerem Gewicht des Balkens hervorgehoben. Verbesserungen der tragenden Elemente, besonders der Schneiden werden ebenfalls besprochen. Über die Konstruktion der Arretierungsmechanismen, der Waagengehäuse und über die steigende Bevorzugung aperiodischer Mikrovaagen wird berichtet. Die Beschränkungen bei der Verwendung von Reitern und die daher neuerdings eingeführten reiterlosen Mikrogramm-Waagen werden beschrieben. Schließlich werden die modernen Richtungen beim Waagenbau kurz erwähnt, wobei besonders auf das steigende Interesse an Wägungen bis zur fünften Stelle und an Wägungen höherer Präzision Bezug genommen wird, bei denen auf die Genauigkeit von einem Zehntel oder einem Hundertstel eines Mikrogrammes Wert gelegt wird.

References.

- ¹ G. F. Hodsmen, *Mikrochem.* **36/37**, 133 (1951).
- ² G. F. Hodsmen and F. A. Chappell, *J. Scient. Instruments* **29**, 330 (1952).
- ³ J. Kuck, *J. Chem. Education* **1942**, 574.
- ⁴ J. Lindner, *Mikrochem.* **34**, 67 (1948).
- ⁵ M. Corner and Hunter, *Analyst* **66**, 149 (1941).
- ⁶ P. L. Kirk, R. Craig, J. E. Gullberg, and R. Q. Boyer, *Analyt. Chemistry* **19**, 427 (1947).

Aus dem Medizinisch-chemischen Institut der Universität Bern.

**Die differenzierte, zeitliche Titration von Proteinen
mit n/150 Kaliumcupri-3-tellurat.**Von
G. Beck.

Mit 2 Abbildungen.

(Eingelangt am 21. März 1955.)

Das dreiwertige Kupfer besitzt in seinen stabilen Komplexen mit Perjodat und Tellurat die Fähigkeit, Proteine in ganz charakteristischer Weise oxydativ abzubauen, indem es zuerst die Cysteingruppen zu Cystin oxydiert und dann die Peptidbindungen oxydativ sprengt¹. Wenn man die Titration in eine Reihe von Teiltitrationen auflöst, indem man z. B. 10 mg Protein in verdünnter Kalilauge sukzessiv mit je 0,2 ml einer n/150 Kaliumcupri-3-telluratlösung (= 82 μg Cu^{3+}) versetzt und jedesmal die Reaktionszeit im Photometer unter Vorschaltung von Violettfiltern mißt, so erhält man durch Verbindung der einzelnen Meßpunkte eine charakteristische Glockenkurve, die je nach der Art des Proteins eine besondere Gestalt aufweist². Vermehrt man die Menge des Proteins, so treten immer mehr feinere Einzelheiten in der Kurve zu Tage, so daß man z. B. bei pathologischen Serumproteinen Abweichungen vom Normalverlauf feststellen kann. Titriert man 30 bis 40 mg Serumalbumin, so löst sich der absteigende Ast in eine Folge von zwölf charakteristischen Stufen auf, die offenbar ganz bestimmten Peptidbindungen entsprechen. Beim aufsteigenden Ast sind weniger Stufen zu beobachten, da 30 mg wahrscheinlich zu wenig sind, um sie zum Vorschein zu bringen.

Es wurde versucht, durch partielle Oxydation des Proteins und durch nachherige Chromatographie des Hydrolysats vom ausgefallten Rest Einblick in den Verlauf der Reaktion zu gewinnen. Doch waren die Resultate bis jetzt nicht eindeutig.

Deutlicher als bei dieser Kurve treten die Abbaustufen in Erscheinung beim Vergleich der mit der Stoppuhr gemessenen Reaktionszeiten, wie sie in Tabelle 1 zusammengestellt sind, mit den entsprechenden Mengen zugesetzter ml n/150 Kaliumcupri-3-telluratlösung. Beim Casein kann man solche Stufen erkennen, wenn man mindestens 60 mg titriert, und beim Globulin treten mit 40 mg die Stufen beim aufsteigenden Ast in Erscheinung. Da für die 40 mg etwa 25 ml n/150 Kaliumcupri-3-telluratlösung benötigt werden, um alle Peptidbindungen zu oxydieren, das heißt, bis die violette Biuretfarbe in Blau umgeschlagen hat, das sind 5 mal 25 = 125 Teiltitrationen, so entspricht eine Stufe etwa 300 μg Protein.

Frühere Untersuchungen ergaben, daß die Proteine von Krebskranken eine gegenüber der Normalkurve veränderte Kurve aufweisen³. Weitere Analysen ergaben, daß auch bei Diabetes mellitus und anderen Krankheiten Abweichungen von den Normalkurven auftreten. In der Abb. 1 sind zwei Albuminkurven von Gesunden und eine von einem Diabetiker aufgetragen. Die Albuminkurve des Diabetikers ist gegenüber der normalen erniedrigt, das heißt, der oxydative Abbau verläuft schneller. Aber auch die Normalkurve 2 verläuft tiefer als 1, was davon herrührt, daß hier eine Spur Blutfarbstoff sich dem Albumin infolge Hämolyse beigemengt. Man kann beobachten, daß in solchen Fällen die Reaktion stets schneller verläuft, wahrscheinlich durch Katalyse des Eisens im Hämoglobin. Aber in allen drei Fällen erkennt man eine kleine Spitze bei 5,4 bis 5,6 ml mit einer deutlichen Vorstufe, ferner kleine Spitzen bei 6 und 6,8 bis 7 ml und von 10 ml an folgt Stufe auf Stufe bei der Normal-

Tabelle 1.

60 mg Casein		30 mg Albumin, normal		40 mg Globulin, Diabetiker	
ml n/150 Cu ⁺⁺	Zeit Min. Sek.	ml n/150 Cu ⁺⁺	Zeit Min. Sek.	ml n/150 Cu ⁺⁺	Zeit Min. Sek.
0,2	1 27	0,2	0 19	0,2	0 29
0,4	1 32	0,4	0 36	0,4	0 39
0,6	1 56	0,6	0 44	0,6	0 52
0,8	2 04	0,8	0 48	0,8	0 52
1,0	2 18	1,0	0 52	1,0	0 54
1,2	2 30	1,2	0 56	1,2	0 56
1,4	2 40	1,4	0 59	1,4	0 59
1,6	2 48	1,6	1 03	1,6	1 05
1,8	2 51	1,8	1 05	1,8	1 10
2,0	2 50	2,0	1 12	2,0	1 09
2,2	2 51	2,2	1 15	2,2	1 18
2,4	2 53	2,4	1 23	2,4	1 16
2,6	2 56	2,6	1 29	2,6	1 25
2,8	2 59	2,8	1 33	2,8	1 32
3,0	2 59	3,0	1 45	3,0	1 42
3,2	2 59	3,2	1 48	3,2	1 43
3,4	3 00	3,4	1 59	3,4	1 56
3,6	3 00	3,6	2 07	3,6	1 58
3,8	2 57	3,8	2 16	3,8	2 11
4,0	2 57	4,0	2 27	4,0	2 16
4,2	2 53	4,2	2 36	4,2	2 30
4,4	2 53	4,4	2 45	4,4	2 39
4,6	2 51	4,6	2 57	4,6	2 43
4,8	2 50	4,8	3 07	4,8	2 48
5,0	2 43	5,0	3 14	5,0	2 48
5,2	2 40	5,2	3 16	5,2	2 55
5,4	2 40	5,4	3 25	5,4	2 55
5,6	2 40	5,6	3 19	5,6	2 53
5,8	2 38	5,8	3 20	5,8	2 53
6,0	2 30	6,0	3 27	6,0	2 47
6,2	2 30	6,2	3 23	6,2	2 50
6,4	2 30	6,4	3 21	6,4	2 52
6,6	2 19	6,6	3 26	6,6	2 49
6,8	2 15	6,8	3 25	6,8	2 46
7,0	2 13	7,0	3 24	7,0	2 39
7,2	2 07	7,2	3 20	7,2	2 40
7,4	2 05	7,4	3 17	7,4	2 35
7,6	2 04	7,6	3 11	7,6	2 34
7,8	1 59	7,8	3 16	7,8	2 29
8,0	1 54	8,0	3 09	8,0	2 29
8,2	1 48	8,2	3 05	8,2	2 21
8,4	1 48	8,4	2 59	8,4	2 20
8,6	1 43	8,6	2 52	8,6	2 15
8,8	1 41	8,8	2 53	8,8	2 15
9,0	1 41	9,0	2 45	9,0	2 07
9,2	1 36	9,2	2 42	9,2	2 07

60 mg Casein		80 mg Albumin, normal		40 mg Globulin, Diabetiker	
ml n/150 Cu ²⁺	Zeit Min. Sek.	ml n/150 Cu ²⁺	Zeit Min. Sek.	ml n/150 Cu ²⁺	Zeit Min. Sek.
9,4	1 34	9,4	2 36	9,4	2 03
9,6	1 27	9,6	2 32	9,6	2 00
9,8	1 27	9,8	2 23	9,8	1 56
10,0	1 27	10,0	2 19	10,0	1 56
10,2	1 22	10,2	2 16	10,2	1 47
10,4	1 17	10,4	2 10	10,4	1 44
10,6	1 17	10,6	2 10	10,6	1 36
10,8	1 15	10,8	2 12	10,8	1 35
11,0	1 13	11,0	2 03	11,0	1 35
11,2	1 11	11,2	2 03	11,2	1 26
11,4	1 04	11,4	1 52	11,4	1 25
11,6	1 06	11,6	1 52	11,6	1 24
11,8	1 01	11,8	1 47	11,8	1 18
		12,0	1 46	12,0	1 16
		12,2	1 45	12,2	1 13
		12,4	1 38	12,4	1 11
		12,6	1 37	12,6	1 06
		12,8	1 38	12,8	1 03
		13,0	1 32	13,0	1 02
		13,2	1 31	13,2	1 02
		13,4	1 31	13,4	1 00
		13,6	1 22	13,6	0 57
		13,8	1 21	13,8	0 57
		14,0	1 20	14,0	0 53
		14,2	1 17	14,2	0 58
		14,4	1 12	14,4	0 53
		14,6	1 12	14,6	0 49
		14,8	1 10	14,8	0 49

kurve 1, die bei der Kurve 2 und der des Diabetikers wegen des flacheren Verlaufes nicht so deutlich hervortreten. Dagegen ist charakteristisch das Absinken der Albuminkurve des Diabetikers von 5 ml an, während sie im Normalfall bis ca. 8 ml mehr horizontal verläuft. Das gleiche kann man auch bei den Globulinkurven beobachten.

Es ist also möglich, durch Titration mit stark verdünnten Lösungen von Kaliumcupri-3-tellurat oder Perjodat feinere Einzelheiten im Bau von Proteinen festzustellen, deren Deutung allerdings erst noch aufzuklären ist.

Zusammenfassung.

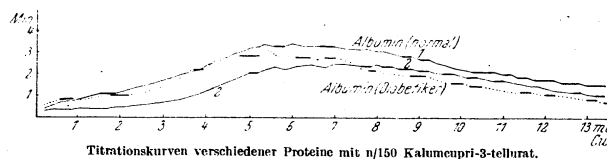
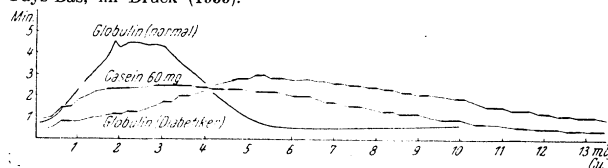
Es wird gezeigt, daß bei der differenzierten, zeitlichen Titration von Proteinen in genügender Menge (40 bis 60 mg) die Abbaukurve in deutlichen Stufen verläuft, die wahrscheinlich ganz bestimmten Peptidbindungen entsprechen.

Summary.

It was shown that in the differential, periodic titration of proteins in sufficient amounts (40 to 60 mg) the degradation curve proceeds in distinct stages, which probably correspond to very definite peptide linkages.

Literatur.

- ¹ G. Beck, Mikrochem. 38 1, 152 (1951); 39, 22 (1952); 40, 258 (1953).
- ² G. Beck, Analyt. Chim. Acta 8, 242 (1953).
- ³ G. Beck und G. Spengler, Helv. Med. Acta 21, 98 (1955); Rec. trav. chim. Pays-Bas, im Druck (1955).



Titrationen verschiedener Proteine mit n/150 Kaliumcupri-3-tellurat.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/14.

Zeilenanzahl: 205.

Aus dem Kontroll-Laboratorium der Riedel-de Haën Aktiengesellschaft,
Chemische Fabriken, Seelze, Hannover.

Photometrische Nickelbestimmung mit Natriumdimethylglyoxim.

Von

Walter Nielsch und Lieselotte Giefer.

(Eingelangt am 21. März 1955.)

Die früher ausgeführten photometrischen Nickelbestimmungen gründen sich auf die Rotbraunfärbung des oxydierten Nickeldimethylglyoxims. Neuere, vorteilhaftere Verfahren beruhen auf der Extrahierbarkeit des Nickeldimethylglyoxims mit Chloroform^{1,2}. Die rote Nickeldimethylglyoximverbindung ist in Chloroform mit gelber Farbe löslich, die hierbei die höchsten Extinktionswerte im Bereich von 360 bis 380 m μ aufweist. Eine weitere Verbesserung des Verfahrens stellt die Benutzung der Natriumverbindung des Dimethylglyoxims als farbbildendes Reagens dar, das den großen Vorteil hat, leicht wasserlöslich zu sein.

Benutzte Reagenzien und Apparaturen:

Alle Reagenzien waren von „Riedel-de Haën für Analyse“ Qualität. Für die photometrischen Messungen diente das Gerät Elko II der Firma Carl Zeiß, Oberkochen, das mit dem UV-Kondensor II und Quecksilberbrenner bzw. Glühbirne in Verbindung mit dem Filter S 38 E verwendet wurde.

NickelstammLösung: 2,4 g Nickelsulfat wurde in Wasser gelöst, mit 10 ml 10%iger NatriumtartratLösung und mit 40 ml Ammoniak versetzt und im Meßkolben auf 500 ml aufgefüllt. In einem Teil dieser Lösung wurde der Nickelgehalt elektrolytisch kontrolliert.

Nickelverdünnung: 10 ml NickelstammLösung wurden mit 10 ml Ammoniak im Meßkolben auf 1000 ml aufgefüllt. 1 ml dieser Lösung enthält somit 10 μ g Nickel.

10%ige NatriumtartratLösung,
5%ige wäßrige NatriumdimethylglyoximLösung,
Chloroform,
Natriumsulfat, entwässert und gepulvert.

Arbeitstechnik:

Verschiedene Nickelmengen (10 bis 130 μ g Nickel) wurden im zylindrischen Scheidetrichter mit 2 ml NatriumtartratLösung und 10 ml NatriumdimethylglyoximLösung kurz durchgeschüttelt. Aus einer Titrierbürette gibt man genau 30 ml Chloroform zu, schüttelt 1 Minute intensiv durch und läßt den größten Teil der Chloroformschicht in ein 50 ml Erlenmeyerkölbchen ab, das mit einem Schliffstopfen verschließbar ist. Das Kölbchen ist vollständig trocken und wird zuvor mit 2 g Natriumsulfat beschickt.

Aufstellung einer Eichkurve:

Eine Eichkurve kann sowohl unter der Benutzung der Glühlampe in Verbindung mit dem Filter S 38 E wie auch mit dem Quecksilberbrenner ermittelt werden. Die günstigsten Ergebnisse werden mit dem Quecksilberbrenner erhalten, da hierbei die monochromatische Lichtstrahlung der Quecksilberliniengruppe bei 366 m μ wirksam ist.

Die erhaltenen Ergebnisse sind in den Tabellen 1, 2 und 3 enthalten.

Überprüfung des Lambertschen Gesetzes:

Eine Lösung von Nickeldimethylglyoxim (60 μ g Nickel) in Chloroform

Gemessen mit Glühlampe.

Tabelle 1.

50-mm-Küvette		
$\mu\text{g Ni}$	D	E ber.
10	82,36	0,0843
20	65,00	0,187
30	63,62	0,271
40	43,43	0,362
50	34,26	0,455
60	28,40	0,547
70	22,80	0,642

Tabelle 2.

20-mm-Küvette		
$\mu\text{g Ni}$	D	E ber.
5		0,025
30	77,63	0,110
50	65,00	0,187
60	59,55	0,225
70	54,84	0,261
80	50,70	0,295
90	46,24	0,335
100	42,70	0,370

Tabelle 3.
Gemessen mit Hg-Lampe

$\mu\text{g Ni}$	D	E ber.
30	76,21	0,118
50	64,16	0,193
70	53,26	0,360
90	43,69	0,360
100	40,28	0,395
110	36,51	0,438
120	33,50	0,475
130	30,96	0,510

wurde in Küvetten verschiedener Schichtdicke gemessen. Bei Anwendung monochromatischer Lichtstrahlung muß der Extinktionsmodul konstante Werte liefern.

Die Tabellen 3 zeigt bei Benutzung der Glühlampe eine fallende Tendenz des Moduls mit steigender Schichtdicke, während bei Verwendung des Quecksilberbrenners hinreichend konstante Modulwerte erhalten werden.

Tabelle 4.
60 μg gemessen mit Glühlampe.

d	E	$\frac{E}{c \cdot d}$
0,498	0,060	0,00201
0,999	0,115	0,00192
1,991	0,225	0,00188
4,997	0,547	0,00182

Tabelle 5.
100 μg gemessen mit Hg-Lampe.

d	E	$\frac{E}{c \cdot d}$
4,997	1,04	0,00208
1,991	0,409	0,00206
0,999	0,205	0,00206
0,498	0,103	0,00207

Sollen in der Praxis kleine Nickelmengen bestimmt werden, so ist es wichtig, die Mindestkonzentration zu kennen, die unter den vorstehenden Bedingungen noch vollständig erfaßbar und damit bestimmbar ist. 50 μg Nickel wurden in Lösungen abnehmender Konzentration wie oben bestimmt. Die gefundenen Werte zeigt Tabelle 6.

Tabelle 6.

$\mu\text{g Ni/ml}$	E	$\mu\text{g Ni gefunden}$
3	0,190	50,0
2	0,190	50,0
1	0,180	48,5
0,7	0,175	47,5

Wie die vorstehenden Werte zeigen, ergibt sich bei einer Nickelkonzentration der wäßrigen Phase von 1 $\mu\text{g Ni/ml}$ ein Analysenfehler von -3%, der bei Absinken der Nickelkonzentration auf 0,7 $\mu\text{g Ni/ml}$ auf -5% ansteigt.

Liegen so kleine Nickelmengen vor, daß durch Einengen der Probe-lösung keine höheren Nickelkonzentrationen erreichbar sind, um fehlerfreie Bestimmungen durchführen zu können, ist es zweckmäßig, der Probe-lösung soviel einer bekannten Nickellösung zuzusetzen, daß eine Mindestkonzentration von 2 $\mu\text{g Ni/ml}$ erreicht wird. Die kleinste noch bestimm-

bare Nickelmenge wurde nicht ermittelt, jedoch lassen sich 5 μg Nickel noch quantitativ sicher erfassen.

Praktische Anwendung des Bestimmungsverfahrens.

Die Anwendung dieser Nickelbestimmung erscheint zunächst durch die vielseitigen Reaktionsmöglichkeiten des Natriumdimethylglyoxims mit anderen Kationen begrenzt. Durch geeignete Tarnmaßnahmen ist aber eine außerordentlich vielseitige Anwendungsmöglichkeit gegeben. Als Anwendungsbeispiel sei die Nickelbestimmung in Eisen und Eisenverbindungen hier beschrieben. Da Natriumdimethylglyoxim nur in alkalischen Lösungen beständig ist, muß in den Arbeitsvorschriften diese Tatsache mitberücksichtigt werden. In Eisen und seinen Verbindungen läßt sich das Nickel in der vorstehend beschriebenen Weise bestimmen, wenn man das Eisen durch Weinsäure bzw. Natriumtartrat tarnt.

Arbeitsweise: 5 g Carbonyleisenpulver wurden in verd. H_2SO_4 gelöst, zur Oxydation des Eisens mit HNO_3 ($d = 1,4$) versetzt und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde mit Wasser aufgenommen und im Meßkolben auf 200 ml aufgefüllt. Je 10 ml dieser Lösung (= 0,25 g Fe bzw. 0,9 g $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$) wurden in einen Schütteltrichter gegeben und mit steigenden Mengen Nickel versetzt. Dazu wurden nacheinander 20 ml 25%ige Natriumtartratlösung, 2 ml Ammoniak ($d = 0,91$), 10 ml 5%ige Lösung von Dimethylglyoxim-Natrium zugefügt und umgeschüttelt. Dann wurde mit genau 30 ml Chloroform 1 Minute geschüttelt. Um die geringen Mengen Eisenverbindungen, die sich eventuell in Chloroform lösen, sicher quantitativ zu entfernen, wurde die Chloroformschicht in einen zweiten Schütteltrichter abgelassen, mit 0,5 ml Salzsäure angesäuert, 5 ml Tartratlösung, 2 ml Ammoniak und 10 ml Natrium-Dimethylglyoxim-Lösung zugegeben und noch einmal 1 Minute geschüttelt. Die Chloroformschicht wurde dann in einen trockenen, verschließbaren und mit 2 g Natriumsulfat beschickten 50-ml-Erlenmeyer abgelassen. In der 2-cm-Küvette wurde unter Benutzung des Filters S 38 E und der Hg-Lampe gemessen gegen die gleiche Menge Eisenlösung, die genau so behandelt wurde wie die Versuchslösungen, aber ohne Nickelzugabe. Das Carbonyleisen ist nicht nickelfrei, doch macht sich bei dem hier angewandten Verfahren dieser Nickelgehalt nicht störend bemerkbar.

Tabelle 7. Experimentelle Daten zur Arbeitsvorschrift.

Zugefügte Ni-Menge in μg	E	Ni gefunden in μg
30	0,115	29,5
50	0,200	50,5
70	0,280	70
100	0,390	99

Um den Nickelgehalt des verwendeten Eisens zu ermitteln, wurden 10 ml der Eisenlösung (= 0,25 g Fe) wie oben beschrieben behandelt und gegen eine Blindlösung der Reagenzien gemessen. Die Extinktion dieser Lösung betrug 0,220, was einem Nickelgehalt von 55 μg bzw. 0,022% entspricht.

Nachdem der Nickelgehalt des benutzten Eisenpulvers so ermittelt war, wurden 10 ml Eisenlösung mit steigenden Nickelmengen versetzt, wie oben behandelt und gegen eine Blindlösung der Reagenzien gemessen. Die erhaltenen Werte zeigt Tabelle 8.

Tabelle 8.

Nickelzugabe in μg	E	Nickel gefunden in μg
30	0,335	85 (= 55 + 30)
50	0,415	105 (= 55 + 50)
70	0,500	128 (= 55 + 99)
100	0,604	154 (= 55 + 99)

Wie man aus den beiden Tabellen ersieht, läßt sich nach der angegebenen Arbeitsweise das Nickel mit einer Genauigkeit von $\pm 1\%$ bestimmen.

Die Methode stellt also ein sehr genaues Verfahren für die Spurenbestimmung von Nickel dar.

Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, daß sich Nickel in kleinen Mengen mit dem wasserlöslichen Natriumdimeethylglyoxim fällen läßt. Die gebildete Nickelverbindung wird mit Chloroform extrahiert und nach Trocknung mit dem Gerät Elko II in Verbindung mit dem Quecksilberbrenner und UV-Kondensor mit Filter S 38 E photometriert. Für die Nickelbestimmung in Eisen und seinen Verbindungen wird eine Arbeitsvorschrift angegeben.

Summary.

It has been shown that very small quantities of nickel can be precipitated with the water-soluble sodium dimethylglyoxime. The resulting nickel compound is extracted with chloroform. After drying, it is subjected to photometry with the Elko II device in conjunction with the mercury lamp and a S 38 E filter. A procedure is given for the determination of nickel in iron and its compounds.

Literatur.

- ¹ W. Nielsch, Z. analyt. Chem. **140**, 268 (1953).
- ² W. Nielsch, Z. analyt. Chem. **143**, 273 (1954).

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/15.

Zeilenanzahl: 329

Contribution from the Department of Chemistry, New York University,
New York 3, N. Y.

Microchemistry for the Organic Chemist: A Postgraduate Training Programm.

By

T. S. Ma* and Richard F. Sweeney.

* Present address: Department of Chemistry, Brooklyn College, Brooklyn 10, N. Y.

With 6 Figures.

(Received February 25, 1955.)

New York University was one of the pioneer schools in America to introduce microchemistry into the postgraduate curriculum. Under *J. B. Niederl* and *A. A. Benedetti-Pichler*, microchemical courses were organized to fit the American educational system. Within a short time, the University became a center of microchemistry in America, and the laboratory manuals^{1,2} developed in its laboratories have become known throughout the country. The founders and their coworkers have since left the University, but their guiding spirit remains. While the training program has undergone certain changes in recent years, the University still maintains its traditional emphasis in the teaching of microchemistry. It is the purpose of this communication to discuss some aspects of the current postgraduate courses in the field of organic microchemistry at New York University.

During the first stage of the development of microchemistry in the United States there was a great demand for organic microanalysts to set up microanalytical laboratories and perform routine analyses. Therefore the postgraduate course at New York University was focused on the training of *Pregl* techniques. This demand appears to have been met to a large extent, judging from the number of microanalytical laboratories now in industry and research institutions. Some of these microanalytical laboratories have supervisors who train technicians to become microanalysts. These technicians are usually drawn from students with two to four years of college education and very seldom from those at the postgraduate level. A few colleges are offering organic microanalysis in the undergraduate curriculum as, e. g. reported by *Kuck*³ at the First International Microchemical Congress.

The increase in the number of organic microanalysts well versed in the *Pregl* techniques is accompanied by an increase in the desire of the organic chemistry students, especially those interested in research work, to acquire the knowledge of general organic microtechniques. Realizing that the microanalyst is able to perform a complete analysis with about ten milligrams of material, more and more organic chemists are working with research substances on a scale much smaller than that employed in the conventional operations. The investigations of natural products such as vitamins, steroids, alkaloids and antibiotics, and the use of radioactive tracer compounds are typical examples where microtechniques are indispensable. In order to meet the new demand, a course in organic microtechniques has been initiated at New York University. This may be considered the second stage in the development of organic microchemical instruction, in which more attention is given to the *Emich* methods.

General Organic Microtechniques.

The course in general organic microtechniques meets once a week

in the regular semester or twice a week during the summer session. It consists of fourteen one-hour lectures and about one hundred hours of practical work.

The Lectures. — The series of lectures cover the following topics:

1. Introduction. — Historical, the need and advantages of micro-techniques.
2. Determination of Physical Constants. — Melting point, boiling point, density, viscosity, refractive index, optical rotation.
3. General Organic Operations. — Crystallization, filtration, heating, distillation, sublimation, extraction, evaporation, drying.
4. Microsynthesis. — Conversion from macro- to microscale, loss due to transfer and contamination, stirring devices.
5. Isotopic Synthesis. — Labeled compounds, choice of reaction, precautions in radioactive tracer work.
6. Qualitative Microanalysis. — Detection of elements, solubility tests, choice of classification tests, exact micropreparative procedures for derivatives.
7. Adsorption Chromatography. — History, principles, movement of zones, location of zones, recovery of solutes, choice of adsorbent, relative activity of solvents, chemical structure and adsorption.
8. Partition Chromatography. — Theory, partition in column, partition on paper, variations, choice of solvent, applications, electrophoretic separation.
9. Ion Exchange Techniques. — Cation exchangers, anion exchangers, column operation, reactions on the resin, applications.
10. Microscopic Methods. — Chemical microscopy, crystallographic data, applications and limitations, fusion methods.

It will be noted that the first part of the lecture series deals mainly with the classical methods of *Emich* while the second half treats the modern methods of separation, identification and synthesis. There is no textbook for this course. The student is given reading assignments from a variety of books such as those written by *Block*, *Le Strange* and *Zweig*¹¹, *Chamot* and *Mason*⁹, *Cheronis*⁴, *Feigl*⁵, *Kofler*⁶, *Lieb* and *Schöniger*¹⁰, *Schneider*⁷, and *Williams*⁸.

Practical Work. — The laboratory schedule is listed in Table 1. Each student is given a kit, shown in Fig. 1, containing test tubes, centrifuge cones, watch glasses, spot plate, microscope slides, filter funnel, spatula, etc. The test tube rack is designed to hold test tubes of 3-in to 8-in size, and the shallow tray with grooves along its edges serves to support

Table 1. Laboratory Schedule for General Organic Microtechniques.

Period	Assignment
1	Preparation of Some Microchemical Apparatus. — Micro glass rods, capillaries, glass microburner, steam evaporating dish, weighing tubes, pipets.
2	Determination of Physical Constants. — Melting point, eutectic point, boiling point, density.
3	General Methods of Isolation and Purification. — Crystallization, filtration, distillation, steam distillation, sublimation.
4	Microsynthesis on a Decigram Scale. — Cannizaro reaction, bromination, nitrosylation, nitroglycerine.
5	Synthesis on a Milligram Scale. — Acetanilide, benzenesulfonamide, dinitrobenzene, bromobenzoic acid, thiocarbamilide, anthraquinone, anthracene.
6	Micropreparations Involving Several Steps. — Isolation of carvone from essential oil, benzoin-benzil-benzilic acid.
7	Qualitative Microanalysis. — Tests for elements, solubility tests, classification tests, preparation of derivatives.
8	Adsorption Chromatography. — Separation of colored substances, separation of colorless substances.
9	Partition Chromatography. — Partition in a column, partition on paper.
10	Ion Exchange. — Acid removal, isolation of alkaloids, inversion of sugar.
11-14	Application to Actual Problems.

pipets and capillaries and to store the small articles. The student prepares simple glass apparatus in the first laboratory period and makes other equipment as he proceeds along the course.

A pair of students share one set of solid reagents and solutions, shown in Fig. 2. The shelf for solid reagents was originally designed by *R. T. E. Schenck* for use in the course in inorganic microanalysis and holds six rows of 10-ml vials containing all the reagents listed in the textbook by *Benedetti-Pichler*². We have found this shelf to suit the course in organic microtechniques admirably. When not in use, the shelf is covered by a sliding board and occupies a space of only 20×25 cm. One filling of the vials provides enough chemicals for four to five sessions. Liquid reagents are kept in 30-ml bottles with droppers.

In Fig. 3 are shown the universal microheating stage¹² and the melting point block. The inclined microscope keeps the heat away from the face of the operator. These apparatus and a centrifuge are shared by three to four students.

The equipment for adsorption chromatography and ion exchange are shown in Fig. 4. The student makes the simple columns; the ground-joint apparatus is issued to him.

The equipment for paper chromatography is shown in Fig. 5. The student practises one-dimensional chromatography on the paper strip and paper disk and two-dimensional work in the rectangular aquarium. Selection of the solvent system is done in the test tubes. The paper strip is held in position by a paper clip which hangs on the hook made from a copper wire. When the paper containing the sample has been equilibrated with the vapor of the solvent, the copper wire is pushed downward so that the lower edge of the paper strip is immersed in the solvent.

During the last four periods of the practical work each student is assigned a problem to which he can apply the microtechniques he has acquired. The problem may involve microseparation and identification of natural products, measurement of physical constants using the polarizing microscope and the *Kofler* heating stage, or microsynthesis in chamber with controlled atmosphere. The chamber, Fig. 6, is provided with a drier as well as exhaust and inlet blowers, and it has a working area of 50×85 cm. It is also suitable for work with radioactive materials as well as for microtitrations in an inert atmosphere.

It is possible to introduce a course in organic microtechniques with very little cost. The inexpensive apparatus in the student kit (Fig. 1), a small centrifuge, a glass jar and an aquarium comprise all the equipment required. The heating blocks may be conveniently made from metal rod and may be heated with gas.

Quantitative Organic Microanalysis.

This course also runs through the semester and meets once a week. The postgraduate curriculum is so arranged that the two courses in organic microchemistry are offered in alternate semesters, and the student is advised to take the course in general microtechniques before quantitative microanalysis.

The Practical Work. — The laboratory schedule is shown in Table 2. Four microbalances and two semimicro balances are reserved for class use and the laboratory is equipped with duplicate sets of apparatus for the experiments 2 to 8. We limit the number of students to six in a section so that each student can perform his assignment without interference from the rest of the group. The first eight periods cover the fundamental techniques which the student is expected to learn. The instructor demonstrates the technique to the group, and the students carry out the determination and complete the analysis on the same day. This schedule is different from that recommended in *Niederl* and *Niederl*¹, which allows three periods for micro-Dumas nitrogen and four for carbon and hydrogen. We have found that by using pure solid carbon dioxide as a source for the gas, the gasometer for controlling the volume of carbon dioxide may be eliminated and the student is able to learn the micro-Dumas technique in one period. We have also observed that

omission of the wiping of the absorption tubes before the final weighing greatly simplifies the training process without sacrificing precision and accuracy. In this way each student completes at least one determination in the sixth period, and he is later given the opportunity of spending an entire day on carbon and hydrogen determinations. For the first eight periods the student analyzes only compounds of known composition. Beginning with the ninth period, after the student has acquired more skill, research samples are assigned to him. He is to choose the proper method for the determination of element or group and to perform the task under the supervision of the instructor. As a rule the students find this arrangement less tedious and more interesting.

Table 2. Laboratory Schedule for Quantitative Organic Microanalysis.

Period	Assignment
1	Use of micro- and semimicro balance, determination of sensitivity, calibration of weights.
2	Determination of metals in the crucible and in the microboat.
3	Determination of carboxyl group; micro-Kjeldahl method.
4	Micro-Dumas procedure for nitrogen.
5	Molecular weight by micro-Rast method.
6	Determination of carbon and hydrogen.
7	Micro-Carius technique for halogen or sulfur.
8	Determination of alkoxy group.
9-14	Analysis of research samples; other methods of microanalysis.

The Lectures. — The syllabus of the course is listed below:

1. Microbalances and Microweighing. — Construction, types of balances, weighing techniques.
2. Introduction to Gravimetric Methods. — Determination of metallic constituents.
3. Introduction to Volumetric Methods. — Conversion from macro- to microtitration, carboxyl group.
4. Determination of Nitrogen. — Kjeldahl, Dumas, ter Meulen methods.
5. Determination of Molecular Weight. — Vaporimetric, ebullioscopic, cryoscopic, isopiestic methods.
6. Determination of Carbon, Hydrogen and Oxygen. — Dry combustion, wet combustion, problems in oxygen analysis.
7. Determination of Sulfur and Halogens. — Carius, catalytic, potassium fusion method, separation of halogens, special methods for fluorine.
8. Determination of Arsenic and Phosphorus. — Gravimetric, colorimetric.
9. Functional Groups by Titrimetry. — Acids, bases, and salts, hydroxyl, carbonyl, esters, amides, sulfur groups.
10. Functional Groups Involving Special Apparatus. — Alkoxy, acyl, active hydrogen, unsaturated linkages.
11. Functional Groups by Physical Methods. — Spectrophotometry.
12. Organization of the Microanalytical Laboratory. — Equipment, arrangement, interpretation of microanalytical data.

The lecture schedule is arranged as follows. Each of the first eight lectures consists of a thorough discussion of the principle underlying the method to be practiced that day and a critical comparison with other methods. In the second half of the course, the various functional groups are treated. Emphasis is on the use of the determination of functional groups for the proof of molecular structure. The student is trained to interpret the result of a determination and is constantly reminded of the fact that there is no universal method which is applicable to all types of organic compounds.

The textbook by *Niederl* and *Niederl*¹ is used in this course and supplementary readings are suggested. The student is referred to the book by *Steyermark*¹³ for industrial laboratory practice, and to *Pregl-Grant*¹⁴ and *Houben-Weyl*¹⁵ for prevailing methods used in the European labor-

atories. Reading assignments on functional group analysis are selected from *Siggia*¹⁶, *Wild*¹⁷ and the "Organic Analysis" series¹⁸.

The object of this course is two-fold: to give the organic chemist a clear understanding of the quantitative methods and to teach the analytical chemist microanalytical techniques without ignoring the chemistry involved. Graduates who are analytically inclined will be competent to organize a microanalytical laboratory, supervise technicians for routine work and develop new methods as the situation arises. On the other hand, the organic research chemist, who accounts for a large proportion of the students taking this course in recent years, probably will never have to perform microanalyses after he has received his Ph. D. degree, but he can apply the knowledge to great advantage. He is aware of the limitations and applications of the analytical methods, and he will be able to select the element or group to be determined. He is thus able to intelligently interpret the results and thus expedite the solution of his research problems.

Summary.

The recent trend in organic microchemical training is discussed. A new course in general organic microtechniques has been added to the postgraduate curriculum at New York University for the benefit of the organic research chemist who has to work with minute quantities of material. The course includes both the classical *Emich* techniques and the modern methods of micro separation, identification, and synthesis.

A modified syllabus for quantitative organic micro analysis is presented. The student learns the fundamental techniques in the first half of the course and analyzes research samples in the second half. More emphasis is given to the determination of functional groups and the interpretation of the analytical results.

Zusammenfassung.

Die derzeitige Richtung der Ausbildung in organischer Mikrochemie wird besprochen. An der New York University wurde ein neuer Kurs für allgemeine organische Mikromethoden in das Postbaccalaureat-Unterrichtsprogramm für jene Laboratoriumschemiker auf dem organischen Gebiet eingefügt, die mit kleinen Materialmengen arbeiten müssen. Dieser Kurs berücksichtigt die klassischen Verfahren von *Emich* und auch die modernen Methoden zur Trennung, Erkennung und Darstellung.

Ein abgeänderter Lehrplan in quantitativer organischer Elementaranalyse wird beschrieben. Die Studenten lernen die grundlegenden Arbeitsverfahren in der ersten Halbzeit des Kurses und beschäftigen sich in der zweiten Halbzeit mit der Analyse von in der organischen Forschung erhaltenen Stoffen. Erhöhter Nachdruck wird auf die Bestimmung funktioneller Gruppen und die Auslegung und Auswertung der Analysenergebnisse gelegt.

Literatur.

¹ J. B. *Niedert* and V. *Niedert*, *Micromethods of Quantitative Organic Analysis*, 2nd ed., New York: Wiley, 1942.

² A. A. *Benedetti-Pichler*, *Introduction to the Microtechnique of Inorganic Analysis*, New York: Wiley, 1942.

³ J. A. *Kuck*, *Mikrochem.* **36/37**, 54 (1951).

⁴ N. D. *Cheronis*, *Micro and Semimicro Methods*, Interscience, 1954.

⁵ F. *Feigl*, *Spot Tests*, vol. 2, Amsterdam: Elsevier, 1954.

⁶ L. *Kofler* and A. *Kofler*, *Mikromethoden zur Kennzeichnung organischer Stoffe*, Innsbruck: Wagner, 1948.

⁷ F. *Schneider*, *Organic Qualitative Microanalysis*, New York: Wiley, 1946.

⁸ T. I. *Williams*, *An Introduction to Chromatography*, London: Blackie & Son, 1946.

⁹ E. M. *Chamot* and C. W. *Mason*, *Handbook of Chemical Microscopy*, vol. 1, 2nd ed., New York: Wiley, 1940.

¹⁰ H. *Lieb* and W. *Schöniger*, *Anleitung zur Darstellung organischer Präparate mit kleinen Substanzmengen*, Wien: Springer-Verlag, 1950.

¹¹ R. J. *Block*, R. *Le Strange* and G. *Zweig*, *Paper Chromatography*, New York: Academic Press, 1952.

¹² T. S. *Ma* and R. T. E. *Schenck*, *Mikrochem.* **40**, 245 (1953).

¹³ A. *Steyermark*, *Quantitative Organic Microanalysis*, Philadelphia: Blakiston Co., 1951.

¹⁴ J. *Grant*, *Pregl's Quantitative Organic Microanalysis*, London: Churchill, 1951.

¹⁵ *Houben-Weyl*, *Methoden der organischen Chemie*, 4th ed., vol. 2, *Analytische Methoden*, Stuttgart: Thieme, 1953.

¹⁶ S. Siggia, Quantitative Organic Analysis Via Functional Groups, 2nd ed., New York: Wiley, 1954.

¹⁷ F. Will, Estimation of Organic Compounds, London: Cambridge University Press, 1953.

¹⁸ J. Mitchell (ed.), Organic Analysis, vols. 1 and 2, New York: Interscience, 1953.

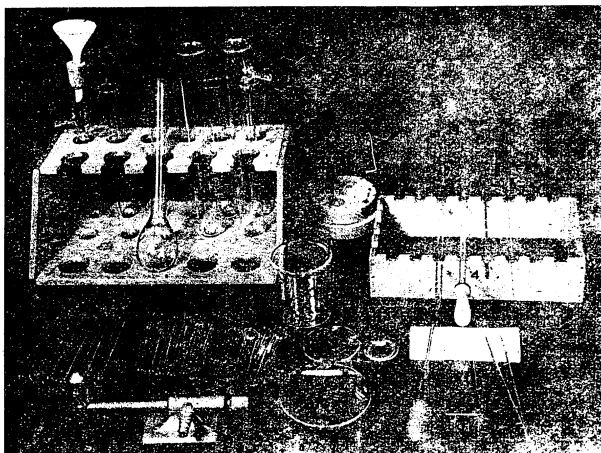


Fig. 1. Student Apparatus Kit.

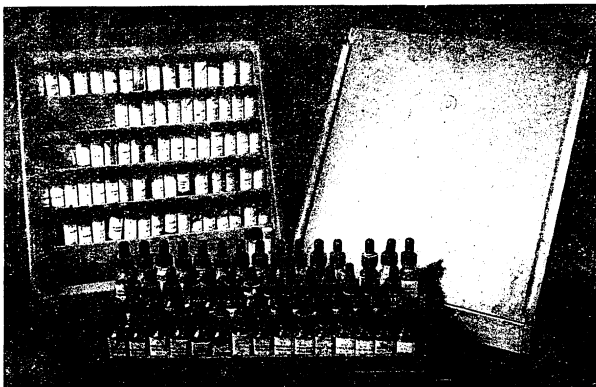


Fig. 2. Chemicals and Solutions.

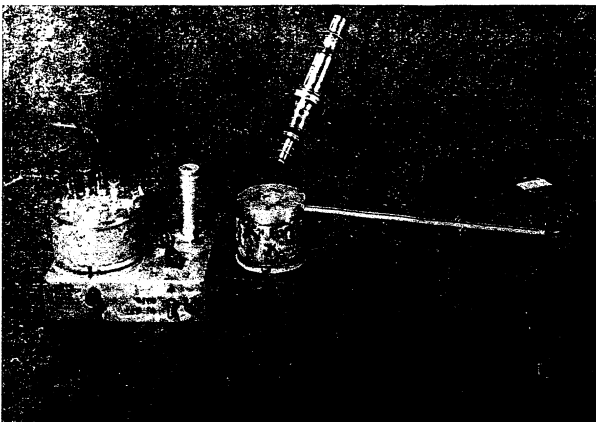


Fig. 3. Heating Stage and Melting Point Block.

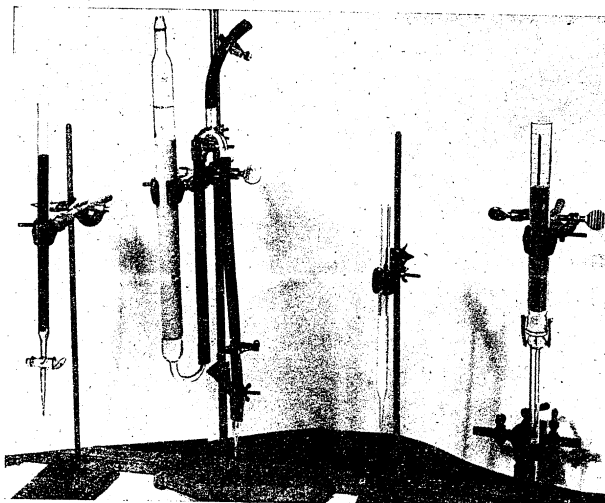


Fig. 4. Equipment for Adsorption Chromatography and Ion Exchange.

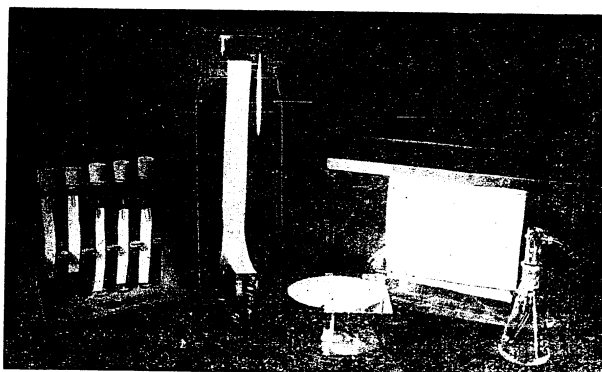


Fig. 5. Equipment for Paper Partition Chromatography.

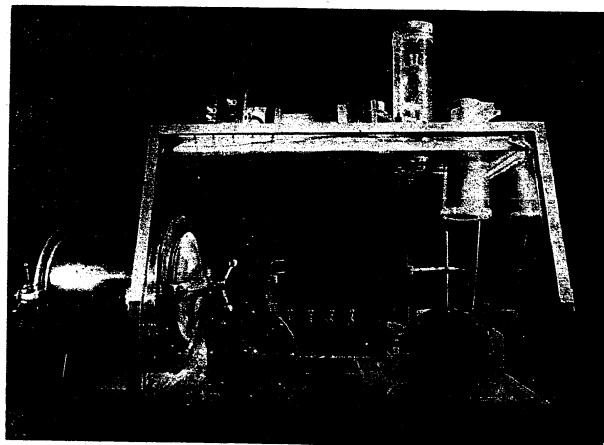


Fig. 6. Chamber with Controlled Atmosphere.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/16.

Zeilenanzahl: 271.

Laboratory for Analytical Chemistry, University of Ghent (Belgium).

The Separation of Micro-Amounts of Indium from Zinc by Liquid-Liquid Extraction.

By

L. Kosta* and J. Hoste.

* L. Kosta, on leave from the Institute "J. Stefan", Ljubljana, Yugoslavia, expresses his indebtedness to Prof. J. Gillis, Rector of the University of Ghent, for the permission to work in his laboratory and to the Institute "J. Stefan" for the financial support during this investigation.

(Received March 21, 1955.)

Introduction.

In the course of an investigation on the determination of trace amounts of Indium in Zinc by radioactivation analysis, there was a need for a rapid quantitative separation of these elements from each other.

Presenius and Jander¹ mention a separation by liquid-liquid extraction from 4.5 M HBr with diethylether, stating however that there occurred some extraction of zinc, needing a subsequent separation by classical chemical means.

From the data in the recent literature²⁻⁵, it results that indium in the trivalent state can easily be extracted into diethylether from hydrobromic acid solutions. Till now there is no literature on the extraction of zinc, except a paper of Bock and co-workers⁶, who determined the distribution coefficients of a number of metallic bromides in the system HBr-diethylether. Details about the method employed for the determination of zinc in either phase are not given**.

** Recently the quantitative extraction of zinc chloride by methyl-diethylamine-trichloroethylene has been reported⁷. The authors do not mention the behaviour of indium under the conditions employed.

It seemed therefore desirable to obtain more reliable data about the distribution coefficient of ZnBr_2 . In the present work the radionuclides In^{114} and Zn^{65} have been used in the study of the distribution coefficients of zinc and indium in aqueous solutions of HBr as a function of the acid concentration.

I. Extraction of ZnBr_2 by Diethylether.

Procedure.

To determine the distribution coefficient, 10 ml of the aqueous solution of a given concentration as to HBr and radioactive metal ion are pipetted into a separatory funnel. 10 ml of the fresh distilled solvent are added (without pre-equilibration with the acid) and the funnel is shaken by hand through 5 minutes. The phases are then left to separate for some hours or over night. The aqueous phase is carefully separated and caught into a 50-ml measuring flask, the volume made up with acid of the same normality, added from a burette, to determine the change of volume after shaking. The volume of the organic phase is determined in the same manner by making up with diethylether. 4 ml aliquot of each phase are then transferred into a vial fitting a welltype sodium iodide crystal. Then the activity is determined. The distribution coefficients are calculated from the activity data, after correction for the changes of volume.

The results from Table I indicate a relatively high extraction of zinc. The values obtained are about twice as high as those resulting from the experiments of Bock and co-workers. At concentrations of hydro-

bromic acid above 3 M the value for the extractability of zinc, expressed in percent extraction is practically constant, amounting to about 9%. As already noted by *Bock*, the solubility of the organic phase in aqueous solution increases with the HBr concentration.

Table I. The distribution of ZnBr_2 between ether and hydrobromic acid as a function of the concentration of hydrobromic acid.

HBr Mol/L	ZnBr_2 Mol/L	c/sec ph. aq.	c/sec ph. org.	vol. ph. aq.	vol. ph. org.	K	% Zn ph. org.
1	0.1	115	1.4	10.6	9.0	0.014	1.4
2	0.1	144	3.7	10.9	8.9	0.031	3.1
		146	4.1	10.9	8.7	0.035	3.4
3	0.1	76	6.1	11.4	8.3	0.110	9.9
		76	6.1	11.4	8.2	0.111	10.0
3.5	0.075	146	8.9	11.5	7.8	0.090	8.3
		145	9.3	11.5	7.7	0.096	8.7
4	0.1	75	5.8	12.0	7.5	0.123	11.0*
		76	4.9	12.1	7.4	0.098	8.9
5	0.1	78	3.3	13.7	5.5	0.105	9.5
		79	2.9	14.1	5.3	0.098	8.9

* Probably some aqueous phase included with the organic solvent.

From the study of the extractability of zinc at a constant (4 M) concentration of hydrobromic acid as a function of the zinc concentration, a slight increase of the distribution coefficients appears only at highest concentrations of zinc (Table II). On the other hand an increased solubility of ether has been noted in concentrated zinc bromide solutions. The high extractability of zinc with ether practically excludes this method as a quantitative separation of indium from zinc.

Table II. Distribution of ZnBr_2 between ethylether and hydrobromic acid as a function of the zinc concentration.

Zn Mol/L	HBr Mol/L	c/sec ph. aq.	c/sec ph. ether	vol. ph. aq.	vol. ph. ether	K	% Zn ph. ether
$9.0 \cdot 10^{-1}$	4	187	8.3	14.1	3.8	0.13	11.7
$1.0 \cdot 10^{-1}$	4	188	10.8	11.7	6.2	0.11	9.7
		188	10.8	11.6	6.6	0.10	9.2
$1.1 \cdot 10^{-2}$	4	207	13.2	11.3	7.0	0.10	9.3
		206	11.5	11.2	7.1	0.09	8.2
$2.0 \cdot 10^{-3}$	4	206	11.1	11.3	6.8	0.09	8.3
		208	11.3	11.3	6.9	0.09	8.3
$9.3 \cdot 10^{-4}$	4	189	10.4	11.6	6.8	0.095	8.6

II. Extraction of ZnBr_2 by Isopropylether.

In a similar system, isopropylether behaves quite differently, as demonstrated by a study of the distribution coefficient at HBr concentrations varying from 0.5 to 8 M. From the results, summarized in Table III, the zinc extraction appears to be much smaller than with diethylether from an equal HBr concentration. Moreover, only small changes of volumes occur when equal volumes of HBr are equilibrated with isopropylether, as long as the concentration of the acid does not exceed 7 M.

The only value for the distribution of zinc bromide between isopropylether and hydrobromic acid found in the literature is the one given by *J. E. Hydgens* and *L. C. Nelson*⁶ ($K = 10^{-5}$) and differs from the value obtained in our experiments.

III. Extraction of InBr_3 by Isopropylether.

The extraction of indium into isopropylether has been already studied by the same authors⁶ who found for 4.5 M HBr, $K = 4.25$.

For our purpose, however, it was necessary to study the distribution coefficient throughout the entire HBr range considered. The results are summarized in Table V.

Table III. Distribution of ZnBr_2 between isopropylether and hydrobromic acid as a function of the HBr concentration.

HBr Mol/L	ZnBr_2 Mol/L	c/sec ph. aq.	c/sec ph. org.	vol. ph. aq.	vol. ph. org.	K	% Zn ph. org.
0.5	0.1	195	0.8	9.9	8.9	0.0044	0.4
		195	0.7	9.9	9.0	0.0036	0.4
1	0.1	193	0.9	9.85	8.9	0.0047	0.5
		197	0.6	9.95	8.9	0.0033	0.3
2	0.1	396	1.5	9.90	9.2	0.0041	0.4
		387	0.9	9.95	9.2	0.0025	0.3
3	0.1	190	1.2	9.95	8.6	0.0073	0.7
		196	3.7	9.8	8.9	0.020	2.0*
4	0.1	196	1.1	9.9	8.7	0.0066	0.7
		200	1.1	9.8	—	—	—
5	0.1	198	1.1	9.9	8.7	0.0065	0.7
		200	1.2	10.0	8.7	0.0070	—
6	0.1	197	1.25	10.0	8.6	0.0074	0.7
		195	1.3	—	—	—	—
7	0.1	191	1.6	11.2	8.3	0.0115	1.0
8	0.1	210	1.1	14.65	5.1	0.0155	1.5

* Probably some aqueous phase included into the organic solvent.

Regardless of the concentration of zinc bromide, the distribution coefficient remains very small throughout the whole range studied, from 2 M to $6.5 \cdot 10^{-4}$ M ZnBr_2 (Table IV).

Table IV. Distribution of ZnBr_2 between isopropylether ether and hydrobromic acid as a function of the zinc concentration.

HBr Mol/L	ZnBr_2 Mol/L	c/sec ph. aq.	c/sec ph. org.	vol. ph. aq.	vol. ph. org.	K	% Zn ph. org.
2	2	189	2.2	9.8	9.9	0.0115	1.1
4	1	404	2.4	9.8	9.4	0.0062	0.6
6	1	396	2.6	10.8	8.35	0.0084	0.8
6	0.1	163	1.1	10.2	9.3	0.0072	0.7
6	0.01	171	1.1	10.05	9.3	0.0070	0.7
6	0.00065	153	0.9	10.1	9.35	0.0063	0.6
		151	1.1	10.05	9.3	0.0078	0.8

Table V. Extraction of indium into isopropylether as a function of the concentration of hydrobromic acid.

HBr Mol/L	InBr_3 Mol/L	c/sec ph. aq.	c/sec ph. org.	vol. ph. aq.	vol. ph. org.	K	% In ph. org.
1	$1.4 \cdot 10^{-4}$	138	0.64	9.5	9.7	0.0046	0.5
2	$1.4 \cdot 10^{-4}$	137	4.2	9.6	9.8	0.031	3
3	$1.4 \cdot 10^{-4}$	111	30	9.75	9.6	0.27	21.2
4	$1.4 \cdot 10^{-4}$	49	93	9.85	9.45	1.90	65.5
		52	93	9.65	9.55	1.79	64.2
5	$1.4 \cdot 10^{-4}$	13.6	133	9.85	9.6	9.78	90.7
6	$1.4 \cdot 10^{-4}$	4.4	140	10.1	9.4	31.8	97.0
		3.65	112	10.05	9.35	33.0	97.1
		8.8	261	9.95	9.3	29.6	96.7
7	$1.4 \cdot 10^{-4}$	8.1	148	11.1	8.3	18.3	94.7
8	$1.4 \cdot 10^{-4}$	62.0	28.2	14.7	5.1	0.45	31.0

The value of $K = 4.25$ at 4.5 M HBr by *Hydgen* and *Nelson* appears to be in good agreement with our results obtained by interpolation between 4 and 5 M HBr.

The variations of K as a function of the indium concentration are evident from Table VI. K increases with the indium concentrations.

From the experiments resal-el in Table VI, it appears that, at 6 M HBr, the extraction of InBr_3 is quantitative (97%) whereas the extraction of ZnBr_2 is still negligibly small (0.7%).

Table VI. Extraction of indium tribromide into isopropylether as a function of the indium concentration.

InBr ₃ Mol/L	HBr Mol/L	c/sec ph. aq.	c/sec ph. org.	vol. ph. aq.	vol. ph. org.	K	% In ph. org.
10 ⁻¹	6	1.6	235	9.9	9.5	153	99.3
10 ⁻²	6	2.2	136	10.05	9.3	68	98.5
1.1 · 10 ⁻³	6	3.5	123	10.1	9.3	38	97.6
1.4 · 10 ⁻⁴	6	3.65	112	10.05	9.35	33	97.2

The influence on the extraction of InBr₃ from a very high concentration of ZnBr₂ in 6 M HBr has also been investigated.

From concentrated (2 M) solutions of zinc bromide (Table VII) isopropylether extracts indium to a much smaller extent (at HBr 6 M). Such a concentration of zinc is usually not encountered in practice as it corresponds to an almost saturated solution. Nevertheless it is still possible to extract over 95% of indium from such a solution at the total bromide ion concentration of 8 M (4 M HBr + 2 M ZnBr₂).

Table VII. Extraction of indium tribromide in the presence of concentrated solutions of zinc bromide (2 M).

InBr ₃ Mol/L	HBr Mol/L + ZnBr ₂ Mol/L	c/sec ph. aq.	c/sec ph. org.	vol. ph. aq.	vol. ph. org.	K	% In ph. org.
1.4 · 10 ⁻⁴	2 + 2	88	48	9.8	9.9	0.54	35.3
1.4 · 10 ⁻⁴	4 + 2	5.8	109	10.05	9.3	20.4	95.4
1.4 · 10 ⁻⁴	6 + 2	113	3.0	15.4	3.7	0.11	9.9

The high extractability of indium bromide into isopropylether on the one hand and the negligible one of zinc bromide on the other suggest the application of this solvent for the separation of zinc and indium in the analysis of zinc blends and metallic zinc, which usually contains indium as a trace element. Thus a rapid and clean cut separation could eventually be achieved.

Summary.

The study of a method for the determination of indium in zinc by radioactivation created the necessity for the isolation of indium after irradiation. The separation procedure based on the extractability of InBr₃ into diethylether is not achievable in the presence of zinc. The distribution coefficients as determined by the use of radioactive ⁶⁵Zn for a wide range of hydrobromic acid concentrations and metal ion concentrations are relatively high, corresponding to a 9% extraction.

Further experiments showed the possibility of such a separation when ethylether was replaced by isopropylether. The extractability of ZnBr₂ in this solvent is negligible in the acidity range 0.5 to 6 M HBr.

The results of the distribution of indium tribromide obtained from the activity measurements when radioactive In¹¹⁴ has been used as tracer, have demonstrated quantitative recovery of indium in a single extraction from 6 M HBr.

The volume changes of the two phases are very small in comparison to those arising when diethylether is used as solvent.

Because of its simplicity and efficiency, this separation method could prove very convenient in the analysis of metallic zinc and zinc concentrates in which indium is to be determined.

Zusammenfassung.

Die Ausarbeitung einer Methode zur Bestimmung von Indium in Zink auf radioaktivem Wege ergab die Notwendigkeit, das Indium nach der Bestrahlung zu isolieren. Die Trennung durch Extraktion des InBr₃ mit Diäthyläther ist bei Gegenwart von Zink nicht durchführbar. Die unter Verwendung von radioaktivem ⁶⁵Zn innerhalb weiter Konzentrationsbereiche an Bromwasserstoffsäure und Metallion bestimmten Verteilungskoeffizienten sind relativ groß und entsprechen einer 9%igen Extraktion. Weitere Versuche ergaben die Möglichkeit einer Trennung bei Verwendung von Isopropyläther an Stelle von Diäthyläther. Aus 0.5- bis 6-m Bromwasserstoffsäure ist ZnBr₂ durch Isopropyläther kaum zu extrahieren. Die

bei Verwendung von radioaktivem ^{114}In als Indikator durchgeführten Untersuchungen der Verteilung von Indiumtribromid durch Aktivitätsmessung ergaben, daß Indium bei einer einzigen Extraktion aus 6-m HBr quantitativ wiedergefunden wird. Die Volumenveränderungen der beiden Phasen sind sehr klein gegen die bei Verwendung von Äthyläther.

Wegen seiner Einfachheit und großen Wirksamkeit könnte sich dieses Trennungsverfahren gut für die Bestimmung von Indium in metallischem Zink oder Zinkkonzentraten bewähren.

Literature.

¹ *Fresenius and Jander*, Handbuch der Analytischen Chemie, vol. III, Berlin: Springer-Verlag, 1942, p. 596.

² *I. Wada and R. Ishii*, Scient. Pap. Inst. Phys. Chem. Res. (Tokyo) **24**, 135 (1934).

³ *I. Wada and R. Ishii*, Scient. Pap. Inst. Phys. Chem. Res. (Tokyo) **34**, 787 (1938).

⁴ *R. Vanossi*, Anales assoc. quim. Argentina **38**, 363 (1950).

⁵ *R. Bock, H. Kusche and E. Bock*, Z. anal. Chem. **138**, 167 (1953).

⁶ *J. E. Hydgens and L. C. Nelson*, Analyt. Chemistry **24**, 1472 (1952).

⁷ *M. A. Mahlman, G. W. Leddicotte and F. L. Moore*, Analyt. Chemistry **26**, 1939 (1954).

Aus dem Institut für Medizinische Chemie der Universität, Uppsala, Schweden.

Einige Ultramikromethoden in der quantitativen organischen Elementaranalyse.

Von

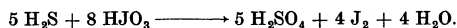
Wolfgang J. Kirsten.

Mit 6 Abbildungen.

(Eingelangt am 22. März 1955.)

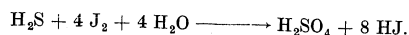
Der Mangel an Substanz für die Analyse, der einst *Pregl* dazu trieb, seine quantitative organische Mikroanalyse auszuarbeiten, ist seit *Pregl* nicht geringer geworden, sondern vor allem auf den Gebieten der Medizin und Biochemie zwingt er zur Suche nach immer empfindlicheren analytischen Methoden. Im mikroanalytischen Laboratorium des Medizinisch-Chemischen Institutes in Uppsala wurden in der letzten Zeit einige neue, empfindliche Elementaranalysemethoden ausgearbeitet.

Für die Schwefelbestimmung beschrieben wir vor einiger Zeit^{1, 2} eine Methode, die auf trockener Verbrennung und folgender Hydrierung des Schwefels beruht. Das Prinzip geht aus der Abb. 1 hervor. Für die Ultramikrobestimmung des gebildeten Schwefelwasserstoffes versuchten wir verschiedene kolorimetrische Methoden. Die Molybdänblau- und die Methylenblaumethode wurden nach gründlicher Prüfung als nicht genügend zuverlässig befunden. *Bethge*³ fand jedoch vor einiger Zeit, daß Sulfid in alkalischer Lösung durch Erwärmen mit Jodat quantitativ zu Sulfat oxydiert werden kann. Dabei wird eine der Sulfidmenge entsprechende Jodatmenge zu Jodid reduziert. Nimmt man nun einen großen Überschuß an Jodat zu der Reaktion und säuert die Lösung nach der Reduktion an, so wird das reduzierte Jodid von der überschüssigen Jodsäure zu freiem Jod oxydiert. Dieses wird mit Tetrachlorkohlenstoff ausgeschüttelt und die Jodfarbe bei 513 m μ gemessen. Praktisch geht die Bestimmung auf folgende Weise vor sich: Der Schwefelwasserstoff wird in 1 ml 10-n Natronlauge absorbiert. 2 ml 10%ige Jodsäure werden zugesetzt und die Lösung wird 10 Minuten in ein kochendes Wasserbad gestellt. Sie wird dann gekühlt, 2 ml Tetrachlorkohlenstoff werden zugesetzt und es wird mit 3 ml 10-n Schwefelsäure angesäuert. Nun wird eine Minute lang geschüttelt. Ist die Lösung schwach rot gefärbt, so wird die Tetrachlorkohlenstofflösung in eine 5-cm-Mikroküvette pipettiert und die Farbe gemessen. Man erhält so die Standardkurve I (Abb. 2) für 5 bis 70 μ g Schwefel. Erscheint die Farbe für diese Art Messung zu kräftig, so gibt man weitere 3 ml Tetrachlorkohlenstoff hinzu, schüttelt noch einmal und kann dann die Farbe entweder in der Mikroküvette messen — man erhält so die Kurve II für 20 bis 120 μ g Schwefel — oder man kann in der 1-cm-Küvette ablesen und erhält die Kurve III für 100 bis 600 μ g Schwefel. Ist die Farbe auch hierfür zu stark, so gibt man weitere 15 ml Tetrachlorkohlenstoff hinzu und mißt in der 1-cm-Küvette, wobei man die Kurve IV für 0,4 bis 2,5 mg Schwefel erhält. Man braucht also bei der Einwaage nichts über den Schwefelgehalt der Probe zu wissen. Hält er sich zwischen 5 μ g und 2,5 mg, so erhält man eine gute Analyse. Ein großer Vorteil der Methode ist, daß sie auf stöchiometrisch eindeutigen Reaktionen beruht. Die Reaktion verläuft nach folgender Summengleichung:



Der Wunsch, die Empfindlichkeit der Methode zu vergrößern, führte zu der folgenden Überlegung:

Löst man freies Jod in Kalilauge, so wird es unmittelbar zu Hypojodit und Jodid disproportioniert und das Hypojodit geht rasch in Jodat und Jodid über. Säuert man die Lösung an, so reagiert das Jodat wieder mit dem Jodid zu freiem Jod. Erwärmt man eine solche alkalische Jodid-Jodat-Lösung mit Sulfid, so wird, wie oben erwähnt, eine dem Sulfid entsprechende Jodatmenge zu Jodid reduziert. Säuert man nun die Lösung an, so wird nicht mehr alles Jodid zu Jod oxydiert, sondern eine dem Sulfid entsprechende Jodidmenge bleibt in Lösung. Vertreibt man das freigewordene Jod durch Hindurchblasen eines warmen Pentan-gasstromes, so kann man danach das übriggebliebene Jodid durch Zusatz von Jodat zu Jod oxydieren und, wie oben beschrieben, mit Tetra-chlorkohlenstoff ausschütteln und kolorimetrieren. Die Reaktion läßt sich jetzt also wie folgt summieren:



Man erhält somit eine bedeutend größere Empfindlichkeit als nach der vorher beschriebenen Methode. Abb. 3 zeigt eine Standardkurve, die mit dieser Methode erhalten wurde. Diese ist relativ einfach, genau und zuverlässig und erlaubt die Bestimmung von 0,5 µg Schwefel mit zufriedenstellender Genauigkeit. Leider erreicht sie noch nicht die Empfindlichkeit der Methylenblaumethode. Eine Standardkurve, die mit unserem Apparat mit der Methylenblaumethode erhalten wurde, zeigt Abb. 4. Leider verändert sich die Lage der Methylenblaukurve von Tag zu Tag mit Änderungen der äußeren Umstände, so daß die Methode für genaue Bestimmungen nicht zuverlässig genug ist.

Die Verbrennungs-Hydrierungsmethode ist auch für die Ultra-mikrobestimmung von Halogenen geeignet⁴. Die Versuche in dieser Richtung befinden sich jedoch noch im Anfangsstadium.

Vor einiger Zeit veröffentlichten wir eine Dumas-Stickstoffbestimmungsmethode, die sich durch Einfachheit und große Genauigkeit auszeichnete⁵. Zusammen mit B. Grunbaum, Berkeley, Kalifornien, der einige Monate in unserem Institut arbeitete, versuchten wir diese Methode für Ultramikrobestimmungen zu benützen. Wir arbeiteten zunächst mit dem gleichen, nur etwas kleineren Apparat, wie für die beschriebene Halbmikromethode. Es zeigte sich bald, daß das verwendete Hahnfett (Silikonfett) Stickstoff absorbierte und nach und nach wieder abgab, was zu hohen Blindwerten und tiefen Resultaten führte. Der ganze Apparat wurde deshalb so umkonstruiert, daß alle störenden Schliffe vermieden wurden. Der Apparat ist in Abb. 5 dargestellt. Das Verbrennungsrohr ist aus Quarz und so verlängert, daß es direkt unter dem Quecksilber in das Azotometerrohr mündet. Der Schliff, durch den die Substanz eingeführt wird, ist mit einer Kapillare versehen, durch die ständig Kohlendioxyd ausströmt, so daß eventueller Stickstoff, der im Hahnfett absorbiert wurde, nicht in das Azotometer gelangen kann, sondern nach hinten ausgeblasen wird. Es werden zwei Azotometer benutzt, die nach jeder Analyse so verstellt werden, daß das Verbrennungsrohr einmal in das eine und bei der nächsten Analyse in das andere Azotometer mündet. Mit speziell behandeltem Kohlendioxyd ist der Blindwert auch mit dem Ultramikroazotometer nicht meßbar. Die Einwaage beträgt 0,1 bis 0,2 mg Substanz. In einer Serie von 22 Analysen von 7 reinen Substanzen verschiedener Zusammensetzung wurde eine mittlere Abweichung σ von 0,22% erhalten. Ein Analytiker kann an einem siebenstündigen Arbeitstag bequem 10 Analysen ausführen, einschließlich Wägungen und Berechnung der Resultate.

Für die Bestimmung von Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff in kleinen Mengen organischer Substanz beschritten wir einen neuen Weg⁶. Die Substanz wird zusammen mit einem Stück metallischen Kupfers in ein dünnes Quarzrohr eingewogen. Das Rohr wird nach der Füllung mit reinem Sauerstoff zugeschmolzen. Nun wird es geglüht, wobei die Substanz im Sauerstoff verbrennt, und der Überschuß an Sauerstoff mit dem Kupfer reagiert. Nach der Verbrennung sind also Wasser, Stickstoff und Kohlendioxyd die einzigen gasförmigen Stoffe im Rohre. Dieses wird nun in einem evakuierten Glasapparat (Abb. 6) über Quecksilber zerbrochen. Der Gasdruck wird auf ungefähr 10 mm Quecksilber

eingestellt und gemessen; außerdem mißt man das Gasvolumen (Volumen I). Dann wird der Gasdruck auf Barometerdruck erhöht und das Volumen neuerlich gemessen (Volumen II). Dann wird etwas Kaliumhydroxydlösung in den Apparat gesaugt und das Volumen abermals bei Atmosphärendruck gemessen (Volumen III). III entspricht dem Stickstoff, II Kohlendioxyd plus Stickstoff und I Wasserdampf plus Kohlendioxyd plus Stickstoff. Aus diesen Werten können Wasserstoffgehalt, Kohlenstoffgehalt und Stickstoffgehalt der Substanz leicht berechnet werden.

Der erste Apparat, den wir benützten, war für Substanzmengen von 0,1 bis 0,2 mg Substanz berechnet. Da man bei Anwendung einer Mikrowaage mit Wägefehlern bis zu $4\mu\text{g}$ rechnen muß, waren Fehler von $\pm 2\%$ des Kohlenstoffgehaltes zu erwarten. Unsere Analysen bestätigten dies. Um die Methode genauer studieren zu können, bauten wir, da vorläufig noch keine genauere Waage zur Verfügung stand, einen größeren Apparat, der für Einwaagen von 0,5 bis 1,0 mg Substanz berechnet ist. Um nicht unnötig große Quarzröhren für die Einwaage zu benötigen, benützten wir Kupferoxyd an Stelle des Kupfers im Verbrennungsrohr. Das Kupferoxyd wird bei der Verbrennung teilweise reduziert, was zu dem gleichen Ergebnis führt wie die Benützung eines Überschusses von Sauerstoff neben metallischem Kupfer. Die Arbeiten mit diesem Apparat sind noch nicht abgeschlossen, aber wir können mitteilen, daß die Genauigkeit der Analysen der entsprechenden Mikromethoden mit 3 bis 5 mg Einwaage voll ebenbürtig zu sein scheint.

Wir haben Versuche begonnen, die Gase im Verbrennungsrohr mit dem Massenspektrometer zu bestimmen. Setzt man der Substanz ein Isotop als inneren Standard hinzu, so eröffnet dies die Möglichkeit, in einer Einwaage von weniger als einem Milligramm Substanz nicht nur Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff, sondern auch alle Isotope dieser Elemente quantitativ zu bestimmen.

Zusammenfassung.

Ultramikromethoden für die Bestimmung von Schwefel, Stickstoff, Kohlenstoff und Wasserstoff werden kurz beschrieben.

Summary.

A short description of ultramicromethods for the determination of sulphur, nitrogen, carbon and hydrogen is given.

Literatur.

- ¹ W. J. Kirsten, Mikrochem. **35**, 174 (1950).
- ² W. J. Kirsten, Analyt. Chemistry **25**, 74 (1953).
- ³ P. O. Bethge, Analyt. Chim. Acta **10**, 310 (1954).
- ⁴ W. J. Kirsten, Mikrochem. **40**, 170 (1952).
- ⁵ W. J. Kirsten und B. W. Grunbaum, Analyt. Chemistry, in press.
- ⁶ W. J. Kirsten, Analyt. Chemistry **26**, 1097 (1954).

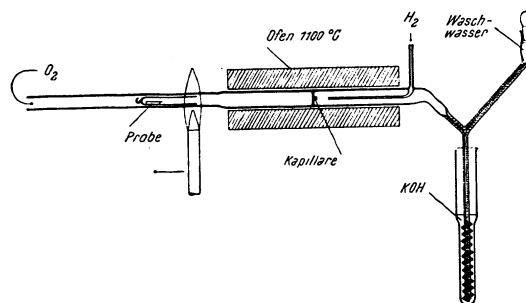


Abb. 1. Skizze des Schwefelbestimmungsapparates.

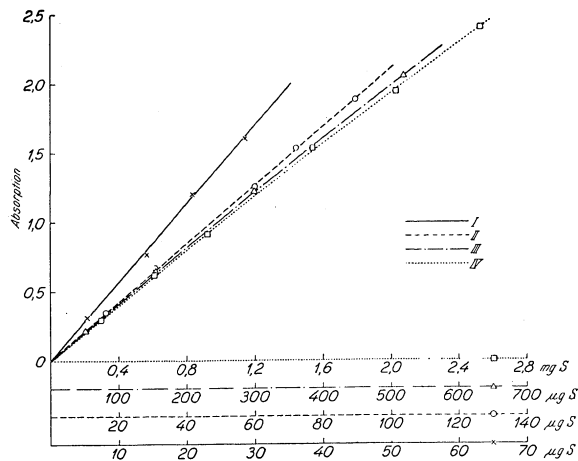


Abb. 2. Standardkurven für die kolorimetrische Schwefelbestimmungsmethode durch Jodatoxydation mit verschiedenen Verdünnungen der erhaltenen Jodlösung.

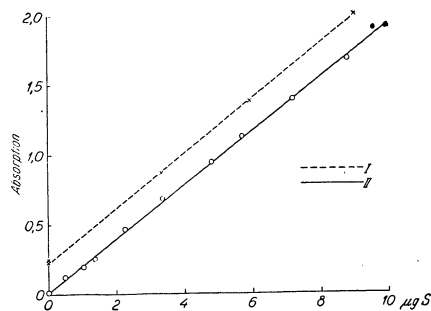


Abb. 3. Standardkurve für die hochempfindliche kolorimetrische Schwefelbestimmungsmethode durch Jodatoxydation.

Kurve I: Oxydationslösung: 0,5 g Jod in 500 ml 1-n Kalilauge gelöst.

Kurve II: Zu 200 ml der obigen Oxydationslösung wurden 2,3 ml einer Lösung von 1,040 Kaliumjodat in Wasser hinzugesetzt. Der Blindwert, der von den Reagenzien herrührte, wurde so auf Null herabgedrückt. Vermutlich war das verwendete Jod nicht ganz rein, oder die Umwandlung von Jod zu Jodat geht nicht absolut quantitativ vor sich, so daß beim Ansäuern nicht alles Jodid zu Jod oxidiert wird, sondern eine kleine Menge Jodid übrig bleibt und einen Blindwert ergibt, der durch Zusatz einer entsprechenden Jodatmenge zur Oxydationslösung beseitigt werden kann.

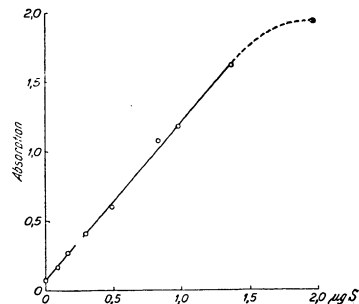


Abb. 4. Standardkurve für kolorimetrische Schwefelbestimmungen erhalten mit der Methylenblaumethode. Eingewogen wurde eine Lösung vom dimeren Dithioacetylaceton in schwefelfreiem Paraffinöl.

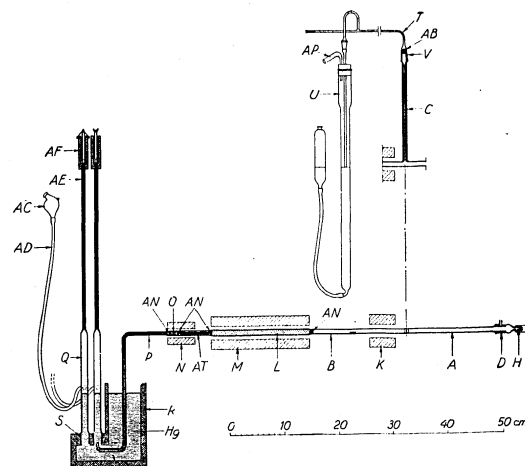


Abb. 5. Ultramikro-Stickstoffbestimmungsapparat.

- A = Teil des Verbrennungsrohres für Rückwärtsspülung.
 B = Teil des Verbrennungsrohres, in dem die Substanz vergast wird.
 C = Seitenrohr, durch das das Kohlendioxyd einströmt.
 D = Schliff, durch den die Substanz eingeführt wird.
 H = Kapillare, durch die während der Verbrennung Kohlendioxyd ausströmt.
 K = Beweglicher Ofen, 1050° C.
 L = Teil des Verbrennungsrohres mit Nickeloxyd-füllung.
 M = Langofen, 1000° C.
 N = Wärmofen, ca. 130° C.
 O = Hopcalit-füllung.
 P = Quarzkapillare.
 Q = Azotometerrohr, weiter Teil.
 R = Azotometerfuß aus durchsichtigem Plastikmaterial, mit Quecksilber gefüllt.
 S = Schliffe im Azotometerfuß.
 T = Quarzstab, der das Verbrennungsrohr ausfüllt.
 U = T-Rohrdruckregler, mit Quecksilber gefüllt.
 V = Schliff Metall-Quarz, mit Silikonfett geschmiert.
 AB = Kapillare, mit Gummi im Schliffe V gehalten.
 AC = Niveaugefäß für das Azotometer.
 AD = Polyäthylenschlauch, 3 mm Durchmesser.
 AE = Geeichte Medkapillare. Das obere Ende der Kapillare ist plan geschliffen; es wird mit einem Gummistopfen geschlossen, der auf den Schliff gepreßt wird. Der Gummistopfen ist in ein Glasrohr eingekittet, das sich im Trichter AF befindet.
 AF = Trichter des Azotometers aus durchsichtigem Plastikmaterial.

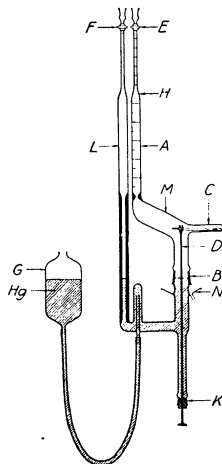


Abb. 6. Apparat für die gasvolumetrische Bestimmung von Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff.

- A = Geeichtes Meßrohr.
 B = Glasschliff.
 C = Seitenrohr mit Verbrennungsrohr.
 D = Gabel aus Glas zum Zerbrechen des Verbrennungsrohres.
 E und F = Vakuumhähne.
 G = Niveaugefäß, mit Quecksilber gefüllt.
 H = Übergangsstelle des weiten Meßrohres in ein schmales.
 K = Gummistopfen, mit Königs Glaskitt in Glasschliff gekittet; innere Bohrung mit Silikonfett geschmiert.
 L = Vergleichsrohr.
 M = Expansionsgefäß.
 N = Trichter zum Auffangen von Quecksilbertropfen.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/18.

Zeilenanzahl: 325

Aus dem Institut für Chemie der Hochschule für Bodenkultur Wien.

Papierchromatographische Strukturanalyse. Bestimmung der Anzahl von Carboxylgruppen in organischen Verbindungen.

Von

E. R. Reichl.

Mit 2 Abbildungen.

(Eingelangt am 23. März 1955.)

Die Aufgaben, die die Papierchromatographie im Rahmen der modernen Chemie zu erfüllen hat, sind zweifacher Art: Sie soll die Trennung kleinster Mengen von Verbindungen, die einander chemisch nahestehen, bewerkstelligen und sie soll die Identifizierung dieser kleinsten Mengen möglich machen. Die erste Aufgabe, die Trennung, erfüllt sie ohne unser Mitwirken in hervorragend präziser Weise, wenn wir nur das geeignete Papier und das jeweils günstigste Lösungsmittelgemisch einsetzen. Ausgezeichnete Methoden für die verschiedensten Stoffklassen gibt es in großer Zahl, es fällt manchmal schon schwer, sie alle zu überblicken.

Zur Lösung der zweiten Aufgabe, der Identifizierung, halten wir heute im wesentlichen noch bei dem Vergleich der R_f -Werte und bei der Anwendung spezifischer Farbreaktionen. Man wird also, wenn man etwa durch Entwickeln mit Ninhydrinlösung eine Aminosäure in dem Chromatogramm eines Pflanzenextraktes festgestellt hat, die man nicht kennt, den R_f -Wert dieser Aminosäure ausmessen und wird nun durch Vergleich mit Testlösungen ermitteln, welche bekannte Aminosäure denselben R_f -Wert besitzt. Findet man tatsächlich unter den Testsäuren eine, deren R_f -Wert unter denselben Chromatographiebedingungen mit dem der unbekannten Substanz übereinstimmt, so ist es möglich, daß die beiden Substanzen identisch sind. Ein Beweis für die Identität ist damit aber noch keineswegs erbracht, denn es ist leicht möglich, daß eine oder mehrere andere Aminosäuren in demselben Lösungsmittel denselben R_f -Wert haben. Man wird dann versuchen, die R_f -Werte der beiden Substanzen in mehreren verschiedenen Lösungsmittelgemischen zu ermitteln und zu vergleichen. Stimmen sie in allen verwendeten Gemischen überein, dann ist die Wahrscheinlichkeit, daß es sich um ein und dieselbe Verbindung handelt, schon recht groß.

Diese Art der Identifizierung mag brauchbar sein, wenn es sich um allgemein verbreitete und bekannte Stoffe handelt, wenn man schon aus anderen, zum Beispiel physiologischen Gründen Anhaltspunkte besitzt, um welche Verbindung es sich handeln könnte, oder wenn der Kreis der Verbindungen, die eine bestimmte Farbreaktion geben, an sich nur klein ist. In Fällen, wo man außer dem R_f -Wert und einer unspezifischen Farbreaktion keinerlei sonstige Indizien in der Hand hat, in Fällen, wo es sich vielleicht wirklich um eine neue oder in der Natur noch nicht aufgefundene Substanz handelt, wird ein Vergleich mit Testsubstanzen zum reinen Glücksspiel. Wenn man aber die reine Vergleichssubstanz zufällig nicht zur Verfügung hat, ist eine Identifizierung überhaupt ausgeschlossen.

Eine Identifizierung allein auf Grund des R_f -Wertes einer unbekannten Substanz aber kann nur möglich sein, wenn man diesen R_f -Wert nicht als ultima ratio der Papierchromatographie betrachtet, sondern annimmt, daß sich in ihm alle Struktureigentümlichkeiten dieser Substanz

ausdrücken. Den ersten Ansatz zur quantitativen Fassung eines solchen Zusammenhanges zwischen Struktur und R_f -Wert verdanken wir *Martin*¹, der 1950 auf Grund theoretischer Vorstellungen forderte, daß in einer homologen Reihe organischer Verbindungen der Ausdruck

$$R_M = \log \frac{R_f}{1 - R_f}$$

von Glied zu Glied dieser Reihe um einen konstanten Betrag zunehmen müsse*. Die Beziehung, deren Gültigkeit von mehreren Autoren an Hand

* Die Bezeichnung „ R_M -Wert“ wurde 1950 von *Bate-Smith* und *Westall*² für den Logarithmus des Kehrwertes des obenstehenden Bruches eingeführt. Der Gebrauch des Symbols in der oben dargestellten Form erscheint zweckmäßiger, da auf diese Weise einer Zunahme des R_f -Wertes auch eine Zunahme des R_M -Wertes entspricht. Im Sinne der Ableitungen *Martins* würde der R_M -Wert in dieser Formulierung dem negativen Logarithmus des Verteilungskoeffizienten entsprechen

verschiedener homologer Reihen bestätigt wurde, erlaubt bereits in einfachen Fällen, R_f -Werte von Verbindungen, die zu Vergleichszwecken nicht zur Verfügung stehen, aus den Werten ihrer Homologen zu berechnen und diese berechneten Werte dann mit dem R_f -Wert einer unbekannten Verbindung zu vergleichen. Auf dieser Basis haben dann *Hulme* und *Swain*³ 1951, als erste und anscheinend bisher einzige Forscher, durch Vergleich der R_M -Werte von Tricarballoylsäure, Citronensäure und einer unbekannten Säure aus Äpfeln geschlossen, daß es sich bei dieser unbekannten Säure möglicherweise um Oxycitronensäure handeln könnte. Es könnte aber natürlich ebenso gut eine andere Säure sein, die in dem verwendeten Lösungsmittel den gleichen R_f -Wert besitzt. Mehr als Wahrscheinlichkeitsschlüsse vermag eben ein solcher Vergleich auch nicht zu liefern.

Nun konnte ich vor kurzem⁴ zeigen, daß diese Additivität der R_M -Werte durchaus nicht auf homologe Reihen beschränkt bleibt, sondern daß sämtliche Gruppen und sämtliche strukturellen Eigentümlichkeiten eines Moleküls ihren additiven Beitrag zum R_M -Wert der betreffenden Verbindung leisten. Es ist also möglich, wenn man sämtliche Gruppenkonstanten kennt (die natürlich für jedes Lösungsmittelgemisch andere Zahlenwerte besitzen), den R_M -Wert und damit auch den R_f -Wert einer beliebigen organischen Verbindung aus diesen Konstanten zusammenzusetzen. Damit sind die R_f -Werte keine letzten Einheiten mehr, die man eben als solche hinnehmen muß, sondern sie lassen sich auf einfache Weise aus der Struktur berechnen. Wo bisher größere Abweichungen von der Additivität beobachtet wurden, lassen sie sich auf starke Wechselwirkungen zwischen benachbarten funktionellen Gruppen zurückführen.

Damit ist aber prinzipiell auch die Möglichkeit zu einer papierchromatographischen Gruppenanalyse gegeben: Wenn es nämlich Paare von Lösungsmittelgemischen gibt, in denen sämtliche Gruppenkonstanten mit Ausnahme einer einzigen paarweise gleich oder wenigstens sehr ähnlich sind, dann kann man durch Vergleich der R_M -Werte in den beiden Lösungsmitteln das Vorhandensein oder Fehlen dieser bestimmten Gruppe in der betrachteten Verbindung feststellen; man kann darüber hinaus auch ermitteln, wie viele solcher Gruppen in dem betrachteten Molekül vorhanden sind.

Freilich ist es nicht leicht, solche Lösungsmittelpaare zu finden. Denn eine Veränderung in der Zusammensetzung des Lösungsmittels wirkt sich gewöhnlich nicht nur auf eine Gruppenkonstante, sondern meist auch auf die anderen aus. Immerhin aber ist es möglich, die Änderung der anderen Konstanten gegenüber jener der zu bestimmenden Gruppe so gering zu halten, daß sich doch einwandfreie „Analysen“-Resultate erzielen lassen.

Im folgenden wird die Bestimmung der Anzahl der Carboxylgruppen in organischen Säuren beschrieben. Die Grundlage des Verfahrens ist einfach: Man vergleicht die R_M -Werte der Substanz in zwei eindimensionalen Chromatogrammen mit verschiedenen Lösungsmitteln, in denen einem, sauren, die Carboxylgruppen undissoziiert vorliegen, während sie in dem anderen, neutralen, ionisiert sind. Lösungsmittel für das

„saure“ Chromatogramm ist ein Gemisch aus 3 Teilen Aceton und 1 Teil 0,5-n Essigsäure. Für das „neutrale“ Chromatogramm wird das Papier vorerst in eine 0,5-n Ammoniumacetatlösung getaucht, zwischen mehreren Lagen Filterpapier abgetrocknet und bei mäßig erhöhter Temperatur getrocknet. Dann wird die Substanz aufgetragen und mit einem Gemisch von 3 Teilen Aceton und 1 Teil derselben Ammoniumacetatlösung chromatographiert.

Als Filterpapier wurde die Sorte Schleicher und Schüll 2043b verwendet; das Papier wurde vor dem Gebrauch mit 10%iger Essigsäure gewaschen und getrocknet. Die Chromatographie erfolgte nach der aufsteigenden Methode, die Startlinie befand sich 2 cm über dem Flüssigkeitsspiegel. Sorgfältiges Arbeiten (luftdichter Abschluß der Gefäße, Temperaturkonstanz, Sättigung der Gasphase) ist unbedingt erforderlich.

Die R_f -Werte der unbekannten Verbindung in den beiden Lösungsmittelgemischen werden bestimmt und daraus die R_M -Werte berechnet. Die Differenz zwischen den beiden R_M -Werten

$$(R_M)_{\text{saure}} - (R_M)_{\text{neutral}}$$

ist dann der Anzahl der Carboxylgruppen, die in der Verbindung vorliegen, proportional, und zwar entspricht im Durchschnitt jeder vorhandenen Carboxylgruppe ein ΔR_M von ungefähr 0,81. Die Werte für Säuren mit einer Carboxylgruppe liegen also um 0,81, die für Säuren

Tabelle 1.

Lösungsmittel 1:				Lösungsmittel 2:			
Aceton 3				Aceton 3			
0,5-n-Essigsäure 1				0,5-n-Ammoniumacetat . 1			
		Lösungsmittel 1		Lösungsmittel 2		ΔR_M	
		R_f	R_M	R_f	R_M		
1	Alanin	0,38	- 0,21	0,30	- 0,35	+ 0,14	
2	β -Alanin	0,26	- 0,45	0,24	- 0,50	+ 0,05	
3	Alizarinsulfosäure ...	0,88	+ 0,87	0,85	+ 0,74*	+ 0,13	
4	Arginin	0,17	- 0,70	0,15	- 0,77	+ 0,07	
5	Asparagin	0,15	- 0,75	0,13	- 0,82	+ 0,07	
6	p-Dimethylamino-azobenzolsulfosäure	0,90	+ 0,94	0,89	+ 0,93	+ 0,01	
7	Glutamin	0,23	- 0,51	0,19	- 0,62	+ 0,11	
8	Glycin	0,26	- 0,45	0,24	- 0,49	+ 0,04	
9	Histidin	0,14	- 0,79	0,19	- 0,64	- 0,15	
10	Isoleucin	0,64	+ 0,26	0,60	+ 0,17	+ 0,09	
11	Leucin	0,67	+ 0,30	0,62	+ 0,22	+ 0,08	
12	Lysin	0,15	- 0,75	0,12	- 0,89	+ 0,14	
13	Methionin	0,56	+ 0,10	0,52	+ 0,03	+ 0,07	
14	Phenylalanin	0,60	+ 0,18	0,58	+ 0,14	+ 0,04	
15	Threonin	0,37	- 0,23	0,34	- 0,37	+ 0,14	
16	Tryptophan	0,54	+ 0,06	0,54	+ 0,07	- 0,01	
17	Tyrosin	0,57	+ 0,13	0,52	+ 0,04*	+ 0,09	
18	Valin	0,54	+ 0,07	0,48	- 0,04	+ 0,11	
19	Asparaginsäure	0,28	- 0,41	0,06	- 1,20	+ 0,79	
20	Gallussäure	0,90	+ 0,94	0,53	+ 0,05	+ 0,89	
21	Gluconsäure	0,59	+ 0,15	0,16	- 0,72	+ 0,87	
22	Glutaminsäure	0,41	- 0,16	0,08	- 1,07	+ 0,91	
23	Lävulinsäure	0,93	+ 1,14	0,61	+ 0,20	+ 0,94	
24	Milchsäure	0,84	+ 0,71	0,52	+ 0,04	+ 0,67	
25	Äpfelsäure	0,78	+ 0,55	0,06	- 1,18	+ 1,73	
26	Bernsteinsäure	0,90	+ 0,96	0,17	- 0,70	+ 1,66	
27	Fumarsäure	0,89	+ 0,89	0,15	- 0,79	+ 1,68	
28	Malonsäure	0,80	+ 0,60	0,18	- 0,64	+ 1,24	
29	Oxalsäure	0,64	+ 0,24*	0,04	- 1,33	+ 1,57	
30	Schleimsäure	0,45	- 0,09	0,01	- 2,00	+ 1,91	
31	Weinsäure	0,54	+ 0,07	0,04	- 1,35	+ 1,42	
32	Aconitsäure	0,90	+ 0,95	0,02	- 1,62	+ 2,57	
33	Citronensäure	0,72	+ 0,42	0,01	- 1,92	+ 2,34	

* Säureflecke streifenförmig verschmiert mit zwei deutlichen Schwerpunkten.

mit zwei Carboxylgruppen um 1,62 und die für Säuren mit drei Carboxylgruppen um 2,43. Die Schwankungen innerhalb der einzelnen Klassen sind zwar ziemlich groß ($\sigma = \pm 0,13$), doch kommt es, wie Tabelle 1 und Abb. 1 zeigen, nirgends zu Überschneidungen.

Von den bisher geprüften Verbindungen nehmen drei Stoffgruppen eine Ausnahmestellung ein:

1. Aminosäuren zeigen nach dieser Methode eine Carboxylgruppe weniger an, als sie besitzen. Aminosäuren mit *einer* Carboxylgruppe haben demnach einen ΔR_M -Wert nahe ± 0 , solche mit *zwei* Carboxylgruppen entsprechen mit ihrem ΔR_M -Wert den einbasischen Carbonsäuren.

2. Verbindungen, die in einem der beiden Lösungsmittel einen R_f -Wert über 0,90 haben, geben meist unbrauchbare Werte. Dies steht in Einklang mit der bekannten Erfahrungstatsache, daß R_f -Werte über 0,90 nicht mehr zuverlässig reproduzierbar sind.

3. Dicarbonsäuren mit räumlich unmittelbar benachbarten Carboxylgruppen, wie Phthalsäure und Maleinsäure, geben ganz abweichende Werte.

Die Ausnahmestellung der Aminosäuren kann sich dann unangenehm auswirken, wenn es nicht möglich ist, die Verbindung durch die Ninhydrinreaktion als Aminosäure zu erkennen. In solchen Fällen kann

Tabelle 2.

Lösungsmittel 1:

Essigester 2
Eisessig 1
Wasser 1

Lösungsmittel 2:

Aceton 3
0,5-n-Ammoniumacetat 1

		Lösungsmittel 1		Lösungsmittel 2		ΔR_M
		R_f	R_M	R_f	R_M	
1	Alizarinsulfosäure ...	0,63	+ 0,22	0,85	+ 0,74*	- 0,52
2	p-Dimethylamino- azobenzolsulfosäure	0,63	+ 0,23	0,89	+ 0,93	- 0,70
3	Alanin	0,52	+ 0,04	0,30	- 0,35	+ 0,39
4	β -Alanin	0,53	+ 0,05	0,24	- 0,50	+ 0,55
5	Arginin	0,22	- 0,55	0,15	- 0,77	+ 0,22
6	Asparagin	0,32	- 0,32	0,13	- 0,82	+ 0,50
7	Gallussäure	0,68	+ 0,33	0,53	+ 0,05	+ 0,28
8	Gluconsäure	0,36	- 0,24	0,16	- 0,72	+ 0,48
9	Glutamin	0,38	- 0,21	0,19	- 0,62	+ 0,41
10	Glycin	0,41	- 0,17	0,24	- 0,49	+ 0,32
11	Histidin	0,38	- 0,21	0,19	- 0,64	+ 0,43
12	Isoleucin	0,70	+ 0,37	0,60	+ 0,17	+ 0,20
13	Lävulinsäure	0,86	+ 0,78	0,61	+ 0,20	+ 0,58
14	Leucin	0,75	+ 0,48	0,62	+ 0,22	+ 0,26
15	Lysin	0,22	- 0,55	0,12	- 0,89	+ 0,34
16	Methionin	0,65	+ 0,27	0,52	+ 0,03	+ 0,24
17	Milchsäure	0,76	+ 0,50	0,52	+ 0,04	+ 0,46
18	Phenylalanin	0,73	+ 0,43	0,58	+ 0,14	+ 0,29
19	Threonin	0,44	- 0,10	0,34	- 0,37	+ 0,27
20	Tryptophan	0,68	+ 0,33	0,54	+ 0,07	+ 0,26
21	Tyrosin	0,58	+ 0,15	0,34	- 0,29*	+ 0,44
22	Valin	0,64	+ 0,25	0,48	- 0,04	+ 0,21
23	Äpfelsäure	0,64	+ 0,25	0,06	- 1,18	+ 1,43
24	Asparaginsäure	0,39	- 0,19	0,06	- 1,20	+ 1,01
25	Bernsteinsäure	0,79	+ 0,58	0,17	- 0,70	+ 1,28
26	Fumarsäure	0,86	+ 0,78	0,14	- 0,79	+ 1,57
27	Glutaminsäure	0,47	- 0,05	0,08	- 1,07	+ 1,02
28	Malonsäure	0,73	+ 0,42	0,18	- 0,64	+ 1,06
29	Oxalsäure	0,40	- 0,17*	0,04	- 1,33	+ 1,16
30	Schleimsäure	0,27	- 0,42	0,01	- 2,00	+ 1,58
31	Weinsäure	0,46	- 0,06	0,04	- 1,35	+ 1,29
32	Aconitsäure	0,82	+ 0,65	0,02	- 1,62	+ 2,27
33	Citronensäure	0,59	+ 0,16	0,01	- 1,92	+ 2,08

* Säureflecke streifenförmig verschmiert mit zwei deutlichen Schwerpunkten.

mit Hilfe der vorstehenden Methode keine Entscheidung getroffen werden, ob es sich bei der fraglichen Substanz um eine Carbonsäure mit n Carboxylgruppen oder um eine Aminosäure mit $(n + 1)$ Carboxylgruppen handelt.

Diese Entscheidung ist dann möglich, wenn man anstatt des Lösungsmittels 1 ein Gemisch aus 2 Teilen Essigester, 1 Teil Eisessig und 1 Teil Wasser zur Chromatographie verwendet. Vergleicht man die R_M -Werte in diesem Lösungsmittel mit denen im vorgenannten Gemisch Aceton: 0,5-n Ammoniumacetat 3 : 1, wie dies in Tabelle 2 und Abb. 2 geschehen ist, so ergibt sich, daß in diesem Falle Säuren mit *einer* Carboxylgruppe ΔR_M -Werte um + 0,35, Säuren mit *zwei* Carboxylgruppen solche um + 1,27 und Säuren mit *drei* Carboxylgruppen solche um + 2,19 besitzen, während die ΔR_M -Werte von Verbindungen ohne COOH-Gruppe um - 0,57 liegen.

Der wesentliche Unterschied gegenüber der zuerst beschriebenen Methode liegt aber darin, daß bei Verwendung des Essigestergemisches als 1. Lösungsmittel auch die Carboxylgruppen der Aminosäuren vollständig erfaßt werden. Es läßt sich also mit dieser Methode eine einwandfreie Bestimmung der Zahl der Carboxylgruppen in allen jenen organischen Verbindungen durchführen, deren R_f -Werte in keinem der beiden verwendeten Gemische 0,90 übersteigen und die nicht sterisch unmittelbar benachbarte COOH-Gruppen im Molekül enthalten. Es verdient noch hervorgehoben zu werden, daß beide beschriebenen Methoden auf Sulfosäuregruppen nicht ansprechen.

Obwohl zu erwarten ist, daß sich bei eingehenderer Untersuchung einer größeren Zahl organischer Säuren auch noch andere Ausnahmefälle finden werden, die sich einer Carboxylgruppenbestimmung nach den beschriebenen Methoden entziehen, dürfte doch mit diesem Verfahren ein beträchtlicher Fortschritt gegenüber dem bloßen Vergleichen des R_f -Werts mit Testsubstanzen erzielt sein. Bedenkt man, welch großer Aufwand zur Carboxylgruppenbestimmung nach den geläufigen makrochemischen Methoden nötig ist (Isolierung, Reinigung, Molgewichtsbestimmung und Carboxylbestimmung), bedenkt man ferner, daß sich nach dem gleichen Prinzip des Vergleichs der R_M -Werte in verschiedenen Lösungsmitteln wahrscheinlich auch andere Struktur-Einheiten des organischen Moleküls werden bestimmen lassen, so scheint es durchaus möglich, daß diese „ ΔR_M -Methode“ eine Zukunft hat.

Herrn Prof. Dr. O. Brunner, Vorstand des Institutes für Chemie der Hochschule für Bodenkultur, erlaube ich mir für die mannigfache Förderung und Unterstützung der vorliegenden Arbeit meinen verbindlichsten Dank auszusprechen.

Zusammenfassung.

Der Ausdruck $R_M = \log \frac{R_f}{1-R_f}$, berechnet aus dem papierchromatographischen R_f -Wert einer organischen Verbindung, läßt sich additiv aus Konstanten für die einzelnen strukturellen Einheiten des betrachteten Moleküls zusammensetzen. Die Zahlenwerte dieser Konstanten sind von der Zusammensetzung des zur Papierchromatographie verwendeten Lösungsmittels abhängig. Wählt man zwei Lösungsmittelgemische, die in allen ihren Gruppenkonstanten mit Ausnahme einer einzigen übereinstimmen, so ist es möglich, durch einfachen Vergleich der R_M -Werte in den beiden Gemischen eine papierchromatographische Strukturanalyse durchzuführen. Nach diesem Prinzip wird in der vorliegenden Arbeit die Bestimmung der Anzahl von Carboxylgruppen in organischen Verbindungen beschrieben. Als erstes Lösungsmittel wird Aceton/Essigsäure oder Essigester/Eisessig/Wasser, als zweites Lösungsmittel Aceton/Ammoniumacetatlösung verwendet. Eine verlässliche Carboxylgruppenbestimmung war bei allen bisher geprüften Verbindungen möglich, deren R_f -Werte in den genannten Lösungsmitteln 0,90 nicht überstiegen und deren Molekül keine sterisch unmittelbar benachbarten Carboxylgruppen enthielt.

Summary.

The expression $R_M = \frac{R_f}{1 - R_f}$, calculated from the paper chromatographic R_f -value of an organic compound, can be constructed additively from the constants of the individual structural units of the molecule under consideration. The numerical values of these constants are dependent on the composition of the solvents used in the paper chromatography. By choosing two solvent mixtures, which agree with respect to all of their group constants with the exception of one, it is possible, by simple comparison of the R_f values in the two mixtures, to carry out a paper chromatographic structural analysis. In the present paper, this principle is used to determine the number of carboxyl groups in organic compounds. The first solvent consisted of acetone/acetic acid or acetic ester/glacial acetic acid/water, the second of acetone/ammonium acetate solution. A reliable carboxyl group determination was possible in all the compounds tried thus far, provided the R_f -values in these solvents did not exceed 0.90 and also provided that the molecule contained no sterically directly adjacent carboxyl groups.

Literatur.

- ¹ A. J. P. Martin, Biochem. Soc. Symposium on Chromatography 1950.
- ² E. C. Bate-Smith und R. G. Westall, Biochim. Biophys. Acta **4**, 427 (1950).
- ³ H. C. Hulme und T. S. Swain, Nature **168**, 254 (1951).
- ⁴ E. R. Reichl, Mh. Chem. **86**, 69 (1955).

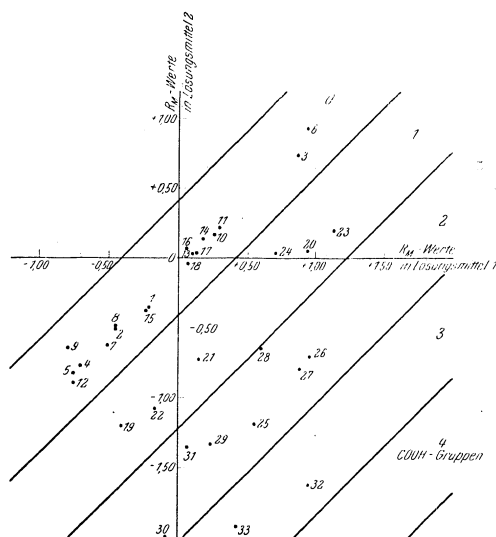


Abb. 1. R_M -Diagramm für das Lösungsmittelpaar. (1) Aceton/0,5-n-Essigsäure 3:1, (2) Aceton/0,5-n-Ammoniumacetat 3:1. Die Bezifferung der Säuren ist die gleiche wie in Tabelle 1.

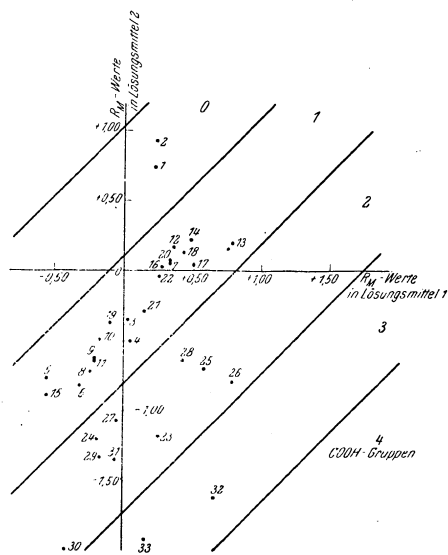


Abb. 2. R_M -Diagramm für das Lösungsmittelpaar. (1) Essigester / Essig / Wasser 2:1:1, (2) Aceton/0,5n-Ammoniumacetat 3:1. Die Bezifferung der Säuren ist die gleiche wie in Tabelle 2.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/19.

Zeilenanzahl: 309.

Laboratorium voor Analytische Chemie, Rijksuniversiteit Gent.

Séparation du Niobium et du Tantale par chromatographie sur papier*.

* Recherches exécutées sous les auspices de l'Institut Interuniversitaire des Sciences Nucléaires.

Par

E. Bruninx, J. Eeckhout et J. Gillis.

Avec 6 figures.

(Reçu le 16 mars 1955.)

I — Objet de la recherche.

De toutes les méthodes proposées pour la séparation du mélange Nb-Ta, seulement trois ont été retenues. La première est celle de *Marignac*¹ basée sur la cristallisation fractionnée des complexes fluorhydriques; la seconde a été décrite par *Schoeller*² et emploie le tannin comme réactif pour réaliser une précipitation sélective; la troisième méthode, la plus récente, est basée sur la séparation chromatographique des deux éléments. Cette séparation a été réalisée sur Dowex 2 comme échangeur d'ions par *Krauss* et *Moore*³, *Huffman*⁴ et *Speecke*⁵. Les premiers auteurs ont employé une solution de complexes fluorhydriques et un mélange acide fluorhydrique — acide chlorhydrique comme éluant, le dernier, des oxalates complexes avec un mélange $H_2C_2O_4 + HCl$ comme éluant. *Burstall*⁶ et collaborateurs ont fait usage de cellulose et d'un solvant organique pour réaliser la séparation des complexes fluorhydriques.

Nous nous sommes proposés de mettre au point une séparation chromatographique sur papier en utilisant les complexes oxaliques du Nb et du Ta.

Nos expériences étant terminées, nous avons pris connaissance d'un travail de *Mercer* et *Welles*⁷ qui ont réalisé la séparation des deux éléments sous forme de complexes fluorhydriques par chromatographie sur cellulose en colonnes.

II — Conditions expérimentales.

a) Préparation des complexes oxaliques.

Les oxalates ont été préparés à partir des pentoxides Nb_2O_5 et Ta_2O_5 , spectrographiquement purs. L'attaque des oxides a été faite par fusion avec un excès de bisulfate de potassium. Si la masse fondue n'est pas claire, on laisse refroidir, ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique et on chauffe jusqu'à dissolution complète. On laisse refroidir et à la masse solidifiée on ajoute une solution bouillante d'acide oxalique. On chauffe jusqu'à dissolution complète. On ajoute ensuite de l'ammoniaque concentrée afin de précipiter les hydroxydes de Nb et de Ta. Immédiatement après, le précipité est centrifugé et lavé deux fois avec de l'eau distillée. L'eau de lavage doit être claire. Les hydroxydes lavés sont mis en solution au moyen d'une solution chaude d'acide oxalique de concentration connue.

b) Contrôle de la séparation.

Aucune réaction chimique n'est assez spécifique pour identifier l'un de ces éléments à côté de quantités notables de l'autre. Aussi l'efficacité de la séparation a été contrôlée presque exclusivement par voie radiochimique au moyen des isotopes ^{95}Nb et ^{182}Ta . La solution des isotopes a été préparée de la même façon que la solution des éléments non radioactifs. A défaut de ^{95}Nb nous avons détecté cet élément dans certaines

expériences au moyen de la réaction colorimétrique au pyrogallol en milieu légèrement alcalin ou neutre.

Le ^{95}Nb est un émetteur β et γ :

$$E_{\beta} = 0,15 \text{ Mev}$$

$$E_{\gamma} = 0,80 \text{ Mev}$$

Le ^{182}Ta est également un émetteur β et γ :

$$E_{\beta} = 0,4-1,0 \text{ Mev}$$

$$E_{\gamma} = 0,2-1,1 \text{ Mev}$$

Le détecteur dont nous disposions ne permettant pas de mesurer séparément les radiations émises par les deux éléments dans un même échantillon, nous avons établi toujours deux expériences en parallèle: dans l'une nous ajoutons une certaine quantité de l'isotope ^{95}Nb , dans l'autre une quantité de l'isotope ^{182}Ta .

Après élution et séchage du chromatogramme, on découpe la bande de papier en pièces d'un centimètre de longueur et on mesure l'activité de chacun des éléments ainsi obtenus — fig. 1.

Portant les activités mesurées en ordonnée en fonction du numéro de l'élément correspondant nous obtenons une courbe représentant la répartition de l'élément considéré le long du papier. La superposition des deux courbes permet de dresser le diagramme de la séparation obtenue, si l'on admet que l'élution de l'un des éléments n'est pas influencée par la présence de l'autre.

Dans les tableaux et figures ci-dessous les valeurs des activités mesurées sont exprimées en coups/min, corrigées pour fond.

c) Mode opératoire.

Dans toutes les expériences nous avons employé le papier Whatman No 1. En raison des quantités très petites de Nb et de Ta employées, la largeur des bandes de papier a été réduite à 1 cm. La longueur était de 25 cm.

Un très petit volume (5 à 10 μl) de la solution de Nb(Ta) contenant de 10 à 25 μg de chacun des oxydes, et à laquelle on a ajouté une petite quantité de l'isotope radioactif, est porté sur la bande de papier à 3,5 cm du bord, un trait indiquant la position initiale.

La bande repliée sur une baguette de verre à 2 cm du bord est pendue dans un vase de Pétri renfermant la solution éluante, et l'ensemble est placé dans un cylindre fermé, saturé de la vapeur de la même solution placée dans le fond (fig. 2). On procède donc par élution descendante.

Après un certain temps, lorsque le chromatogramme est suffisamment développé, on enlève le papier du cylindre, on le sèche à l'infra-rouge, et on détermine la position du Nb(Ta) par détection radiochimique.

Dans certaines expériences nous avons déterminé également le rapport des fronts, non seulement pour le centre de la bande mais aussi pour les extrémités.

III — Description des différentes expériences.

Dans un but d'orientation nous avons essayé différents groupes d'éluants organiques: alcools, cétones, acides. Nous résumons ci-dessous les différents mélanges employés. La composition est exprimée en volumes $\%$.

1. 90% $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OH}$ + 10% HCl 11 M.
2. 95% HCOOH + 5% $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OH}$.
3. 50% HCOOH + 50% $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$.
4. 50% $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH}$ + 50% HCl 11 M.
5. 90% $\text{CH}_3\text{COC}_2\text{H}_5$ + 10% HCl 11 M.
6. 50% dioxane + 25% $(\text{COOH})_2$ (sat.) + 25% $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OH}$.
7. 90% CH_3COCH_3 + 10% HCl 11 M.
8. 90% CH_3COCH_3 + 10% $(\text{COOH})_2$ (sat.).

Parmi tous ces mélanges nous n'avons retenu que le n° 1 et le n° 5. Ces deux éluants ont été soumis à un examen plus approfondi.

a) Séparation avec le mélange $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3\text{OH}-\text{HCl}$.

Dans les essais préliminaires l'élution au moyen d'un mélange butanol — HCl avait donné lieu à un bande assez élargie pour le Nb et deux bandes pour le Ta, l'une coïncidant avec celle du Nb, l'autre étant fortement

avancée par rapport à la première. La présence de deux maxima pour le Ta semble indiquer que dans les conditions employées cet élément existerait sous forme de deux complexes de stabilité différente. Nous avions espéré réussir à déprimer le premier maximum en faveur du second, et obtenir de cette façon une séparation de deux éléments, en réglant le pH de la solution éluante. Dans ce but nous avons essayé 6 mélanges différents — à rapport constant butanol 90: HCl 10, la concentration moléculaire de l'acide chlorhydrique employé variant de 11 à 5. Les résultats ont été peu encourageants. Nous avons pu constater qu'en fonction de l'acidité décroissante, l'élution des 2 éléments devient de plus en plus difficile. Aussi avec le dernier mélange (conc. HCl · 5 M) le Nb n'est plus du tout élué, tandis que le second maximum du Ta ne représente plus que 15% de la quantité totale, comparé à 50% pour le premier mélange.

Les résultats obtenus pour les deux mélanges extrêmes sont résumés dans le tableau I et représentés dans les fig. 3a et 3b.

Tableau I.
Activité mesurée le long de la bande en coups/min.

No	90% Butanol + 10% HCl · 11 M		90% Butanol + 10% HCl · 5 M	
	Nb	Ta	Nb	Ta
1	210	670	438	1099
2	223	266	231	318
3	184	30	55	11
4	122	29	36	11
5	62	20	31	7
6	42	27	28	2
7	24	20	17	10
8	32	32	7	14
9	20	26	4	20
10	9	65	16	75
11	9	131	6	176
12	12	375	—	59
13	1	438	1	0
14	15		2	0

L'augmentation du pourcentage de l'acide chlorhydrique dans le mélange aurait pu donner de meilleurs résultats. Etant limité de ce côté par la solubilité de l'HCl dans le butanol, nous avons dû abandonner ce mélange.

b) Séparation avec le mélange $CH_3 \cdot CO \cdot C_2H_5 - HCl$.

Avec cet éluant une première série d'expériences a été établie dans laquelle la variation de l'acidité a été obtenue en diminuant progressivement, de 11 Mol. à 5 Mol, la molarité de l'HCl, ajouté à la méthyl-éthyl-cétone (M. E. C.) dans un rapport constant de 10 : 90.

Les résultats obtenus sont comparables à ceux obtenus avec le butanol. Cependant avec la méthyl-éthyl-cétone c'est plutôt le Ta qui est peu élué, tandis qu'on obtient deux maxima pour le Nb, l'un coïncidant avec celui du Ta, l'autre étant fortement déplacé. En diminuant l'acidité du mélange l'élution devient de plus en plus faible. Le second maximum du Nb disparaît peu à peu et pour les derniers mélanges on n'obtient plus qu'une bande élargie près du point de départ, tandis que le Ta reste sur place à une petite quantité près, répartie sur une surface très large.

Les résultats pour les deux cas extrêmes sont résumés dans le tableau II et représentés dans les fig. 4a et 4b.

Nous avons pu constater, qu'en augmentant la proportion d'HCl dans le mélange, l'élution du Ta devient de plus en plus faible, tandis que la première bande du Nb disparaît en faveur de la seconde, causant ainsi une séparation de plus en plus satisfaisante. Le meilleur résultat a été obtenu avec le mélange suivant: 75% M. E. C. + 25% HCl 10 M.

Le résultat a été représenté dans la fig. 5.

Nous pouvons constater une séparation nette des deux bandes uniques de Ta et de Nb, obtenues avec ce mélange.

Par voie radiochimique nous avons pu déterminer que le Nb retenu

dans la bande du Ta était de l'ordre de 1%; d'autre part pour le Ta, migrant avec le Nb, la teneur était inférieure à 0,5%, la quantité totale de Ta restant pratiquement sur place.

Pour le rapport des fronts, R_f , nous avons mesuré

Ta: 0,11 (0—0,22)

Nb: 0,78 (0,70—0,86).

Tableau II.
Activité mesurée le long de la bande en coups/min.

No	90% M. E. C. + 10% HCl 11 M		90% M. E. C. + 102% HCl 5 M	
	Nb	Ta	Nb	Ta
1	214	1569	102	1581
2	83	350	170	302
3	14	29	230	29
4	20	26	119	27
5	2	27	74	31
6	17	28	49	36
7	9	26	30	50
8	10	26	15	51
9	117	26	19	41
10	25	23	24	12
11	32	27	25	8
12	62	25	11	2
13	190	23	4	—
14	357	21	9	—
15	137	17		2
16	13	20		
17	12	29		

Dans une seconde série d'expériences nous avons augmenté la proportion d'HCl dans le mélange, passant de 10 à 15 — 20 — 25 et 30%, et pour chaque proportion nous avons laissé varier la concentration molaire de l'HCl employé.

Quelques essais séparés ont montré que la présence d'acide oxalique dans le mélange éluant diminue l'efficacité de la séparation.

c) Séparation du Nb et du Ta, du Fe et du Ti.

Avec le même mélange: 75% M. E. C. + 25% HCl 10 M, ayant donné les meilleurs résultats, nous avons essayé la séparation du Nb et du Ta des éléments Fe et Ti qui les accompagnent ordinairement.

Dans le but d'établir des conditions identiques les oxydes du Fe et du Ti ont été traités complètement de la même façon que les oxydes Nb_2O_5 et Ta_2O_5 . La quantité de Fe et de Ti ajoutée sous forme d'oxalates au mélange Nb/Ta était du même ordre de grandeur que celle de ces derniers éléments. Après élution le Ti est détecté au moyen d'une solution d'acide chromotrope à 10%, donnant une coloration rouge avec cet élément. Le Fe est détecté au moyen d'une solution de pyrogallol, donnant une coloration violette avec le Fe et une coloration jaune avec le Nb.

Le résultat obtenu est représenté dans la fig. 6. Nous remarquons que tout le Fe est concentré dans une zone très étroite donnant une valeur de $R_f = 1,00$. La méthode permet la séparation des éléments Ti, Nb et Fe ou des éléments Ta, Nb et Fe. On ne réussit pas à séparer le Ti du Ta.

d) Séparation sur colonnes.

La séparation de plus grandes quantités de Nb et de Ta (50 mg) a été essayée faisant usage du même mélange éluant et d'une colonne remplie de pulpe de cellulose, mise préalablement en suspension dans l'éluant. Le mélange à séparer est adsorbé à une petite quantité de cellulose, placée ensuite au sommet de la colonne.

L'examen des différentes fractions élues a montré que le résultat obtenu est comparable à celui obtenu sur bandes de papier pour de petites quantités. Le Nb est pratiquement retrouvé entièrement (>90%) dans les 40 premiers ml de l'éluant, tandis qu'on n'a pas pu identifier le Ta dans la fraction réunissant les 30 premiers ml.

Dans la fraction entre le 30^e et le 80^e ml nous avons pu retrouver

$\pm 3,6\%$ du Ta mis en œuvre. La fraction niobique obtenue en rassemblant les 60 premiers ml de l'éluant a été soumise à un examen spectrographique après évaporation à sec et calcinage.

Les résultats sont résumés dans le tableau III.

Tableau III.
Pureté du Nb séparé.

Rapport Nb/Ta	25/1	10/1	1/1
% Ta ₂ O ₅	0,03	0,03	0,5

Ainsi, partant d'un mélange quelconque, on obtiendra du Nb pratiquement pur, par 2 éluions successives.

Résumé.

La séparation du Nb et du Ta à l'échelle micro a été étudiée par chromatographie descendente sur papier, en employant différents éluants organiques. Une séparation très satisfaisante est obtenue en employant comme éluant un mélange de composition suivante: MeCOEt. 75% + HCl 10 M 25%. Comme valeurs R_f nous avons trouvé, pour le Ta: 0,11, pour le Nb: 0,78. Le même éluant permet la séparation des éléments Ti — Nb et Fe ou Ta — Nb — Fe. Ne sont pas séparés le Ta et le Ti. A l'échelle semi-micro, la séparation des éléments Nb/Ta est possible sur colonne de cellulose en employant le même mélange éluant. La pureté du Nb séparé, pour différents rapports initiaux Nb/Ta a été examinée spectrographiquement. Dans tous les cas deux éluions successives suffiront à obtenir une pureté dépassant 99,9%.

Zusammenfassung.

Die Trennung von Niob und Tantal im Mikromaßstab durch absteigende Papierchromatographie wurde unter Anwendung verschiedener organischer Lösungsmittel versucht. Sehr befriedigende Ergebnisse wurden mit einer Mischung von 75% Methyl-Äthylketon und 25% 10-m Salzsäure erhalten. Wir erhielten folgende R_f -Werte: Für Tantal 0,11, für Niob 0,78. Das gleiche Lösungsmittelgemisch eignet sich für die Trennung der Elemente Titan und Niob von Eisen oder der Elemente Tantal und Niob von Eisen. Tantal und Titan wurden nicht getrennt. Im Halbmikromaßstab ist die Trennung der Elemente Niob und Tantal in einer Zellolesäule mit Hilfe des gleichen Lösungsmittelgemisches möglich. Die Reinheit des aus verschiedenen Mischungsverhältnissen (Nb : Ta) abgetrennten Niobs wurde auf spektographischem Wege geprüft. In jedem Falle waren zwei Eluate hinreichend, um einen Reinheitsgrad von mehr als 99,9% zu erreichen.

Summary.

The separation of niobium and tantalum on the micro scale has been studied by paper chromatography. Various organic liquids were used as eluants. A very satisfactory separation is obtained when the following mixture is used as eluant: methyl ethyl ketone (75%) + 10 M HCl (25%). The values of R_f found were: Ta = 0.11, Nb = 0.78. The same eluant likewise permits the separation of titanium-niobium and iron or tantalum-niobium-iron. Tantalum and titanium are not separated. On the semimicro scale it is possible to separate Nb/Ta with a cellulose column and this same eluant. The purity of the niobium obtained from various initial Nb/Ta ratios has been studied spectrographically. In every case, two successive elutions were enough to yield a purity above 99.9%.

Littérature.

- ¹ C. Marignac, Ann. chim. phys. (4) 8, 60 (1866).
- ² W. R. Schoeller et A. R. Powell, Analyst 53, 266 (1928).
- ³ K. A. Kraus et G. E. Moore, J. Amer. Chem. Soc. 71, 3855 (1949); 73, 9, 2900 (1951).
- ⁴ E. H. Huffman, G. M. Idding et R. C. Lilly, J. Amer. Chem. Soc. 73, 4474 (1951).
- ⁵ J. Gillis, J. Eeckhout, P. Cornand et A. Speccke, Mededel. Kon. Vlaamse Academie voor Wetenschappen XV, n° 13 (1953).
- ⁶ F. H. Burstall, P. Swain, A. F. Williams et G. A. Wood, J. Chem. Soc. London 1952, 1497. F. H. Burstall et A. F. Williams, Analyst 77, 983 (1952).
- ⁷ R. A. Mercer et R. A. Wells, Analyst 79, 339 (1954).



Fig. 1

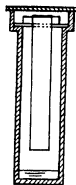


Fig. 2

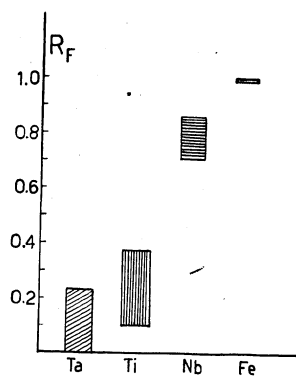


Fig. 6

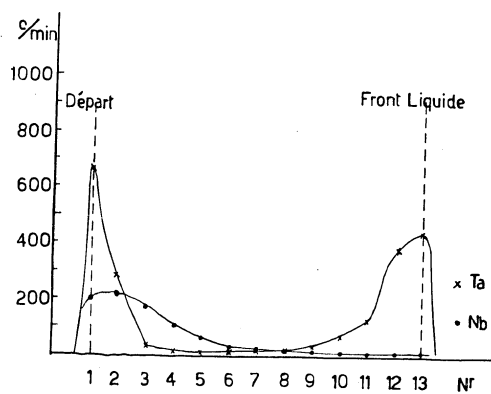


Fig. 3a. BuOH 90% + HCl 10 mol 10%

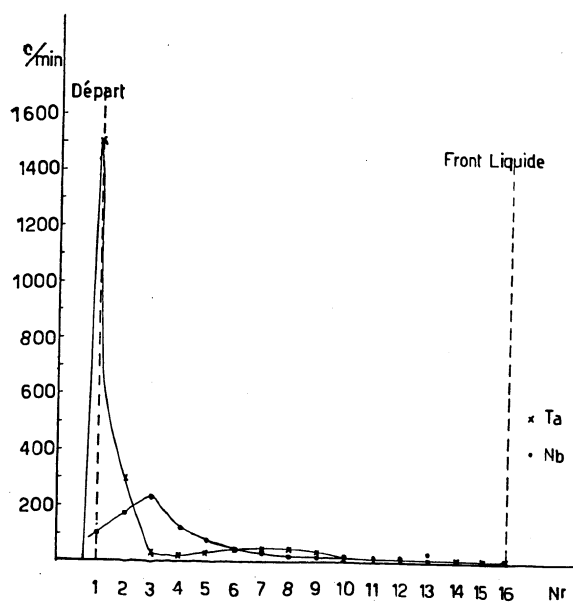


Fig. 4b. M. E. C. 90% + HCl 10 mol 10%

110 a

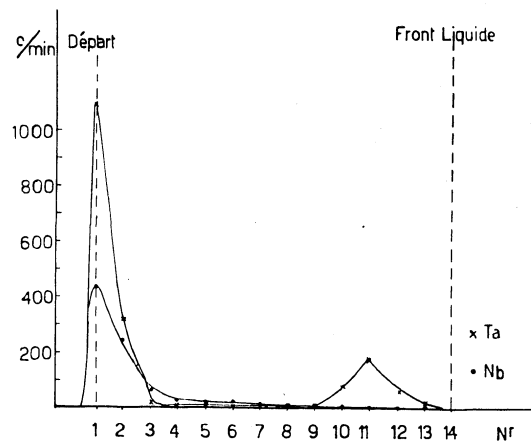


Fig. 3b. BaOH 90% + HCl 5 mol 10%

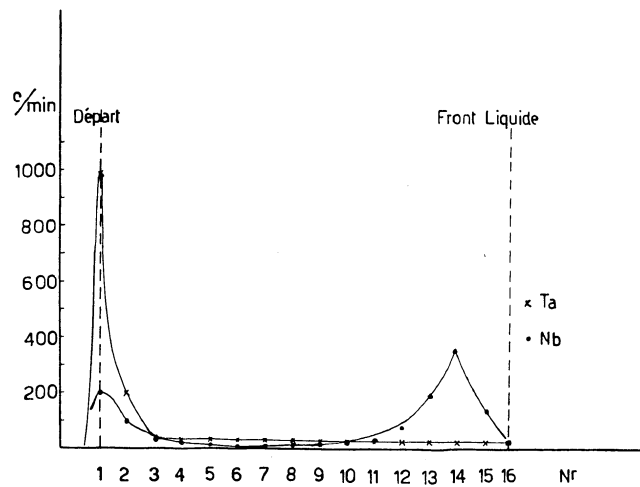


Fig. 4a. M. E. C. 90% + HCl 11 mol 10%

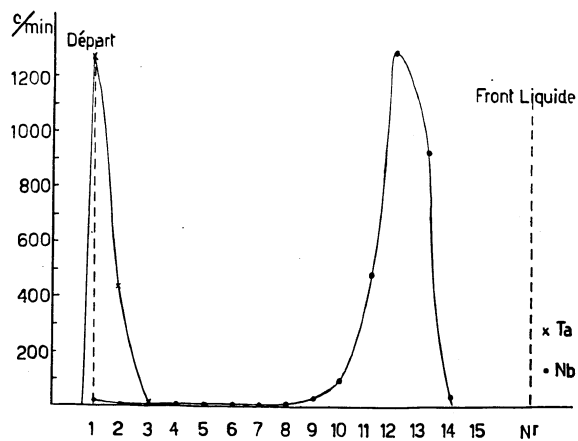


Fig. 5. M. E. C. 75% + HCl 10 mol 25%

110b

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/20.

Zeilenanzahl: 407.

Imperial Chemical Industries (Dyestuffs Division), Research Laboratories,
Manchester.

The Use of the Mass Spectrometer for the Identification of Organic Compounds.

By

J. H. Beynon.

With 9 Figures.

(Received March 8, 1955.)

The mass spectrometer has been in use for many years for the quantitative analysis of mixtures of known hydrocarbons, but its use for the qualitative analysis of organic compounds is still not widely appreciated. The method consists in the bombardment of the vapour of the substance being examined, at a pressure of 10^{-5} to 10^{-6} mm mercury, with electrons having energies of 50 or 100 electron volts. These electrons can not only ionize the molecules of vapour, but can break them down in a variety of ways, forming positive and negative ions and neutral fragments. The positive ions are sorted by the mass spectrometer on the basis of their mass to charge ratios, and the mass spectrum consists of a plot of the relative abundances of the various ion species against their mass to charge ratios. The mass spectrum is characteristic of the substance being bombarded and can therefore be used for its identification; this paper sets out the method by which, with the aid of empirical rules based on a large number of mass spectra, the molecular structure can be deduced in many cases from the mass spectrum. Experience of this method over the past four years has shown it to be an extremely powerful technique.

A typical mass spectrum, that of cyclohexane, is shown in Fig. 1.

Any substance of sufficient thermal stability to give a vapour pressure of 10^{-5} to 10^{-6} mm without decomposition can be examined by this method. The amount of substance required is small, and the above pressures can be maintained in the ionization chamber for several hours using less than a milligramme of sample, while a good deal of useful information can often be obtained on samples many times smaller than this.

The method of introduction of the various samples submitted for mass spectrometric analysis varies with the volatility of the sample and the information required. Samples boiling below about 150°C are examined by first completely evaporating them, and then feeding their vapour, at a pressure of perhaps 1 mm Hg, through a porous leak into the ionization chamber, the leak reducing the sample pressure to the required level. Samples less volatile than this can be examined in a similar manner, but then, the sampling handling system must be heated so as to bring the sample completely into the vapour phase. For quantitative work, it is usual to vaporize the whole sample, so that the vapour then has the same composition as the starting material, which may have been a liquid or solid.

Occasionally, however, other ways of introducing the sample are preferable. For example, if a known compound contains a small amount of more volatile impurity the vapour pressure of the impurity can be enhanced relative to that of the main substance by reducing the temperature of examination as far as possible. This can be achieved by connecting the sample directly to the ionization chamber (i. e. without an intervening leak) and adjusting the sample temperature to give a vapour pressure of 10^{-5} to 10^{-6} mm Hg. A schematic diagram of the sample

handling system is shown in Fig. 2, together with a sketch of one of the vacuum taps used. All taps and conical joints used in the system are lubricated with graphite and sealed with mercury to prevent loss of the samples being examined, and 'memory' effects due to absorption. Some of the methods used for introducing samples to the sample system, including a 'break-off' type vacuum septum for introduction of samples directly to the ionization chamber are shown in Fig. 3.

As in other methods of chemical analysis, identification is usually simpler when the substance being examined is pure, but mass spectrometry has the advantage over conventional methods of analysis that it is usually possible to determine from the mass spectrum whether the substance being examined is a mixture or not, and in simple cases it is often possible to identify each component directly from the mass spectrum. A simple case where this is possible is shown in Fig. 4 which is the spectrum of a mixture of cyclohexane and benzene. This spectrum obviously contains a compound of molecular weight 84, and, in addition, the strong peak at mass 78 means either the ready loss of six hydrogen atoms from this substance, which is extremely unlikely, or the presence of a second substance of molecular weight 78.

Usually, however, the identification of all compounds present in a mixture is an extremely difficult problem, and the mixture is, therefore, usually separated as well as possible into its components before examination. When there is only a small amount of the substance available, vapour-phase chromatography is often an ideal method of separation, and since it can operate on samples of about 10 mg quantity and can be used with samples boiling up to about 350°C, it can be employed for separations of most substances volatile enough to give a mass spectrum. The system which we use for separating compounds boiling below about 130°C is shown schematically in Fig. 5. It employs two platinum wire catharometers, arranged in two of the arms of a Wheatstone bridge, for detection of the vapours issuing from the chromatograph column, and seven collectors for trapping the various constituents of the mixture as they emerge from the column. The collector used for a particular fraction is selected by manipulating the ball-bearing operated valves, and the narrow glass tubes in which the samples are condensed are sealed off for examination later in the mass spectrometer. Two of the collectors are shown in the figure.

A typical chromatogram obtained by this method is shown in Fig. 6, together with the results of mass spectrometric analysis. It can be seen that in this case, many of the components were not resolved by the chromatograph. When this occurs, it is usual to collect only the skirts of the peaks and to pump away the main, unresolved portion of each peak, as a means of increasing the resolution. It is worth noting that in case any of the apparently 'blank' regions of the chromatogram contain very small peaks due to impurities, gas from these regions of the spectrum is usually passed through a collector and sealed for mass spectrometric analysis, since the mass spectrometer is so much more sensitive than the chromatograph.

Having considered the apparatus necessary for the handling and purification of samples to be analysed by mass spectrometry, we will now consider in detail the method of deducing a molecular structure from the mass spectrum.

The most important single item of information required in identification of a compound by mass spectrometry is the molecular weight, and the mass spectrometer is unique amongst analytical methods in being able to provide this information very accurately. Since the vapour pressures used in the ionization chamber are so low and the system is continuously pumped, the mean free path for collisions is of the order of 1000 cm, and collisions between molecules or ions are very unlikely. It can, therefore, be assumed that no ions heavier than a complete molecule (excluding heavy isotopes) can be formed, and that the mass of the heaviest ion gives the molecular weight. Certain groups in a molecule,

handling system is shown in Fig. 2, together with a sketch of one of the vacuum taps used. All taps and conical joints used in the system are lubricated with graphite and sealed with mercury to prevent loss of the samples being examined, and 'memory' effects due to absorption. Some of the methods used for introducing samples to the sample system, including a 'break-off' type vacuum septum for introduction of samples directly to the ionization chamber are shown in Fig. 3.

As in other methods of chemical analysis, identification is usually simpler when the substance being examined is pure, but mass spectrometry has the advantage over conventional methods of analysis that it is usually possible to determine from the mass spectrum whether the substance being examined is a mixture or not, and in simple cases it is often possible to identify each component directly from the mass spectrum. A simple case where this is possible is shown in Fig. 4 which is the spectrum of a mixture of cyclohexane and benzene. This spectrum obviously contains a compound of molecular weight 84, and, in addition, the strong peak at mass 78 means either the ready loss of six hydrogen atoms from this substance, which is extremely unlikely, or the presence of a second substance of molecular weight 78.

Usually, however, the identification of all compounds present in a mixture is an extremely difficult problem, and the mixture is, therefore, usually separated as well as possible into its components before examination. When there is only a small amount of the substance available, vapour-phase chromatography is often an ideal method of separation, and since it can operate on samples of about 10 mg quantity and can be used with samples boiling up to about 350°C, it can be employed for separations of most substances volatile enough to give a mass spectrum. The system which we use for separating compounds boiling below about 130°C is shown schematically in Fig. 5. It employs two platinum wire catharometers, arranged in two of the arms of a Wheatstone bridge, for detection of the vapours issuing from the chromatograph column, and seven collectors for trapping the various constituents of the mixture as they emerge from the column. The collector used for a particular fraction is selected by manipulating the ball-bearing operated valves, and the narrow glass tubes in which the samples are condensed are sealed off for examination later in the mass spectrometer. Two of the collectors are shown in the figure.

A typical chromatogram obtained by this method is shown in Fig. 6, together with the results of mass spectrometric analysis. It can be seen that in this case, many of the components were not resolved by the chromatograph. When this occurs, it is usual to collect only the skirts of the peaks and to pump away the main, unresolved portion of each peak, as a means of increasing the resolution. It is worth noting that in case any of the apparently 'blank' regions of the chromatogram contain very small peaks due to impurities, gas from these regions of the spectrum is usually passed through a collector and sealed for mass spectrometric analysis, since the mass spectrometer is so much more sensitive than the chromatograph.

Having considered the apparatus necessary for the handling and purification of samples to be analysed by mass spectrometry, we will now consider in detail the method of deducing a molecular structure from the mass spectrum.

The most important single item of information required in identification of a compound by mass spectrometry is the molecular weight, and the mass spectrometer is unique amongst analytical methods in being able to provide this information very accurately. Since the vapour pressures used in the ionization chamber are so low and the system is continuously pumped, the mean free path for collisions is of the order of 1000 cm, and collisions between molecules or ions are very unlikely. It can, therefore, be assumed that no ions heavier than a complete molecule (excluding heavy isotopes) can be formed, and that the mass of the heaviest ion gives the molecular weight. Certain groups in a molecule,

such as $\begin{array}{c} \text{-O} \quad \text{CH}_3 \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{-O} \quad \text{H} \end{array}$, or several halogen atoms can lead to such small 'parent'

ions that they can be overlooked. Such cases are not dealt with in this paper, but can usually be recognized from accurate mass or isotopic abundance measurements, or from unlikely mass differences in the remainder of the mass spectrum. Knowledge of the molecular weight immediately eliminates all but a small number of possible empirical formulae. For example, an organic compound of molecular weight 84 would, of necessity, have the composition C_6H_{12} , $\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2$, $\text{C}_2\text{H}_4\text{N}_4$, $\text{C}_5\text{H}_8\text{O}$, $\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_2$ or $\text{C}_4\text{H}_4\text{N}_2\text{O}$. Compounds containing chlorine and sulphur have not been included in the above list, since their presence is usually apparent from the isotopic abundance ratios, though their inclusion would only mean the addition of a small number of formulae to the above list. It is interesting that the molecular weight also gives information on the number of nitrogen atoms present. All compounds of carbon, hydrogen, oxygen, the halogens, silicon, sulphur, phosphorus, arsenic, having an odd molecular weight must contain an odd number of nitrogen atoms. This is due to the fact that nitrogen is the only one of the above elements whose atomic weight and valency are neither both even nor both odd.

But if the mass of the 'parent' ion is measured even more accurately, the number of possible empirical formulae can be still further restricted. Since the masses of the elements are not exactly integral multiples of a unit mass, a sufficiently accurate mass measurement alone enables the elemental composition of the ion to be determined.

Further, since the relative abundances of the natural isotopes are different for the different elements it is possible to distinguish between the various possible empirical formulae for the parent ion by measurement of the isotopic abundances, and comparison of these values with those of all possible combinations of the elements. In Table I are shown values of masses and isotopic abundances for all such possible combinations for an ion of mass 84 (whether a parent ion or not), showing the order of accuracy required in the various measurements. The isotopic ratios must be used with great caution, since a very small impurity peak isobaric with one of the isotopes can lead to large errors in the isotopic abundance ratios. Mass measurement has been found useful on numerous occasions. In one instance, a milligramme quantity of material, for which the ultimate chemical analysis had proved inconclusive, was shown to be a mixture of two compounds of molecular weights 201 and 196 respectively, which had empirical formulae of $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{N}$ and $\text{C}_{13}\text{H}_{24}\text{O}$. The fragmentation peaks in the mass spectra enabled both compounds to be identified from their mass spectra alone.

Table I.

Formula	Mass	$\frac{P_{m+1}}{P_m}$	$\frac{P_{m+2}}{P_m}$	$\frac{P_{m+1}}{P_{m+2}}$
$\text{C}_2\text{H}_2\text{N}_2\text{O}$	84.0466	$3.38 \cdot 10^{-2}$	$2.44 \cdot 10^{-3}$	13.9
$\text{C}_2\text{H}_4\text{N}_4$	84.0705	$3.75 \cdot 10^{-2}$	$5.58 \cdot 10^{-4}$	67.3
$\text{C}_3\text{H}_2\text{N}_2\text{O}_2$	84.0354	$3.73 \cdot 10^{-2}$	$4.52 \cdot 10^{-3}$	8.3
$\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2\text{O}$	84.0592	$4.11 \cdot 10^{-2}$	$2.66 \cdot 10^{-3}$	15.5
$\text{C}_3\text{H}_6\text{N}_3$	84.0831	$4.48 \cdot 10^{-2}$	$8.07 \cdot 10^{-4}$	55.5
$\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_2$	84.0480	$4.46 \cdot 10^{-2}$	$4.77 \cdot 10^{-3}$	9.4
$\text{C}_4\text{H}_6\text{N}_2\text{O}$	84.0718	$4.84 \cdot 10^{-2}$	$2.93 \cdot 10^{-3}$	16.5
$\text{C}_4\text{H}_8\text{N}_2$	84.0956	$5.21 \cdot 10^{-2}$	$1.11 \cdot 10^{-3}$	46.9
$\text{C}_5\text{H}_8\text{O}$	84.0844	$5.57 \cdot 10^{-2}$	$3.26 \cdot 10^{-3}$	17.1
$\text{C}_5\text{H}_{10}\text{N}$	84.1082	$5.94 \cdot 10^{-2}$	$1.47 \cdot 10^{-3}$	40.5
C_6H_{12}	84.1208	$6.68 \cdot 10^{-2}$	$1.88 \cdot 10^{-3}$	35.6

Mass measurements also prove useful when studying the fragment peaks in the mass spectrum, for by giving the elemental composition of such peaks, they give a good deal of information about the arrangement of the atoms within the molecule. However, the factors governing the

modes of breakdown of organic compounds under electron bombardment are not understood so that qualitative analysis by this method has also to be based on empirical relationships derived from examination of large numbers of mass spectra. Thus, in Fig. 7 are shown plotted the mass spectra of some linear paraffins, and it can be seen that for compounds larger than C_4 , the ion peak 43 ($C_3H_7^+$) is always very large. In fact, this ion peak tends to be large for all paraffins, and occurs strongly even for compounds such as neo-hexane where several bonds have to be broken, and re-arrangement of hydrogen atoms must take place for its formation. The presence of a large peak at mass 43 would, therefore, suggest the presence of higher alkyl groups. In the same way, other mass peaks can be used to identify certain terminal groups. Thus, mass 30 is always large for primary amines, masses 31, 45, 59 indicate the presence of oxygen as alcohol or ether, mass 19 or 33 indicates an alcohol, mass 60 indicates a monobasic carboxylic acid, masses 91 and 77 indicate the presence of a benzene ring, and so on. Further information based on the general form of the spectrum can also be obtained from general rules such as the following:

1. A substance having a strong parent peak in its mass spectrum contains a ring, and in general, the stronger the ring, the larger the parent peak. The reverse of this rule does not hold true and many ring compounds having very small parent peaks are known.
2. The mass spectrum of a compound containing a highly substituted ring will usually contain peaks at low mass numbers characteristic of the ring, which enable it to be identified.
3. For a saturated ring, the peak corresponding to loss of two ring atoms is much larger than that for loss of one ring atom.
4. Mono-substituted ring compounds give a large positive ion peak corresponding to fracture at the ring if the ring is saturated, but the prominent peak corresponds to fracture at the bond next but one to the ring if the ring has a double bond next to the side-chain.
5. Arising partly from this rule is the rule that compounds tend to break β to a $-C=C-$ double bond.

O
||

6. Compounds containing a $-C-$ group tend to break at this group,

O
||

that portion of the molecule which includes the $-C-$ group retaining the positive charge.

7. Compounds containing certain groups or large numbers of atoms such as $-Cl$, have very small peaks.

8. Some of the rules can be used to distinguish between isomers. For

C
|
C-C-C-C-C
|
C

example, the C_8H_{18} paraffin $C-C-C-C-C$ would tend to break

only at the branches, and thus to lose 1 or 4 carbon atoms rather than 2 or 3. Of the other C_8H_{18} paraffins, the normal paraffin would tend to have the strongest parent peak, and the highly branched isomers, especially those with two or more methyl groups substituted on a single carbon atom would tend to have very small parent peaks and to lose one of the methyl groups very readily.

An example of the use of these rules to identify an unknown substance is provided by the partial mass spectrum shown in Fig. 8. This compound has the molecular weight 178, and by accurate mass measurement and the isotopic abundance ratios, it was shown to have the formula $C_{11}H_{12}O_2$. It has a fairly strong parent peak, suggesting the presence of a ring and loses mass 41 to form the peak 137, but does not lose, for example, 15 or 17 as it might be expected to do if it contained, say, methyl or hydroxyl as its terminal group. This suggests the terminal group to be double-bonded, and since compounds containing $C=C$ double bonds tend to

break β to such bonds it is reasonable to suppose that the molecule loses as mass 41 the group $-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$. The next peak is a further mass 13 lighter in weight, and suggests removal of a further $-\text{CH}$. This is probably present as $-\text{CH}_2-$; not too much reliance is placed on the number of hydrogen atoms, since they can take part in re-arrangements so easily. Assuming then, that the molecule contains the group $-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}=\text{CH}_2$, it can be seen that the next peak in the spectrum corresponds to loss of a further mass 16. This suggests an oxygen atom next in the chain. The next mass lost is 28, (i. e. two heavy atoms), and this, together with the very strong peak at mass 105, suggests this to be

O
||
—C—

due to loss of —C— since compounds containing this group tend to break

O
||
—C—

at the —C— bonds. This leaves a mass of 77, which is the phenyl group. The substance is thus w-butenyl benzoate. This identification illustrates the type of information on molecular structure obtainable by mass spectrometry.

Mass spectrometry has a further advantage as an analytical method in the very wide range of peak heights which can be dealt with. Thus, calling the weakest peak which can be detected 1 unit strength, peaks of the order 10^5 units can be simultaneously examined. This means that very small amounts of impurity (down to a few p. p. m.) can often be measured and identified in an almost pure substance, provided that there is no serious overlapping of the mass spectra of the substance and its impurity. If the impurity is more volatile than the bulk of the material, then using the method of direct insertion without intervening leak, the sensitivity of the method can be made many times greater. Thus, in favourable cases, the mass spectrometer provides a method for the analysis of very small quantities of material present as impurities, without the need of prior isolation of these impurities. The method has been found particularly useful in the examination of polymer intermediates, where in many cases impurities cannot be detected by any chemical method, but where it is obvious that impurities must have been present due to the physical properties of the polymer produced. An example of the identification of a small amount of impurity in an almost pure compound is given in Fig. 9, which shows the spectrum of a sample of acetyl acetone (molecular weight 100), showing the presence of impurity peaks at masses 106, 105, 91 which were identified as due to xylene. This had been introduced during preparation of the acetyl acetone, when it had been dried with sodium which had been stored in xylene. Subsequent distillation had failed to remove the xylene, which has the same boiling point as acetyl acetone.

This paper has dealt only with the analysis of compounds boiling below about 400°C . Information on compounds less volatile than this can only be obtained indirectly. For example, one method is to pyrolyse the involatile material whose constitution is required at high temperature 'in vacuo' and to examine the products of pyrolysis. Although this method often leads to useful information on groups present in the starting material, a complete analysis can seldom be achieved by its use.

Summary.

The method of analysis of an organic compound by mass spectrometry consists in the bombardment of the vapour of the compound at a pressure of 10^{-5} to 10^{-6} mm Hg with electrons having energies of 50 to 100 volts. These energies are sufficient to break down the molecules in a variety of ways forming positive, negative and neutral fragments. A plot of the relative abundances of the various positive ion species against their mass to charge ratio is the mass spectrum, which provides a means of deducing the molecular structure of the bombarded substance.

The method is limited to substances of sufficient stability to give the above vapour pressures without decomposition, though less volatile substances can be examined after prior pyrolysis. It is a micro-method in that less than 1 mg of material is necessary for production of the spec-

trum, and often, very much less than this is needed to identify a compound.

The sample handling system is described in detail and mention is made of the usefulness of a vapour-phase chromatograph as a means of purification of samples before examination of their mass spectra, or in the examination of mixtures, where the mixture mass spectrum is too complex for complete analysis to be possible.

The mass spectrometer gives several unique advantages over other methods of chemical analysis in cases where samples are sufficiently volatile for their mass spectra to be obtained. Due to the low pressures employed in the ionization chamber, collisions between molecules or ions are very unlikely, and the heaviest ion which can be obtained (excluding those containing heavy isotopes) is that formed from a complete molecule by removal of an electron. This ion can usually be recognized, and its mass measured accurately. It is shown how this immediately limits the number of possible empirical formulae even if the accuracy of measurement is, say, only 1 in 10^3 . However, mass measurements can easily be made to 1 in $2 \cdot 10^4$ which is sufficient to show up the nuclear packing energy differences for the elements, and often, a unique empirical formula can be written for the unknown compound from mass measurement alone. Further evidence on the empirical formula can also be obtained by measurements of the abundances of the naturally occurring isotopes. An illustration of the application of these methods is given.

So far, we have only considered the usefulness of the 'parent' ion of the mass spectrum, but to make use of the method for the determination of structure, full use must be made of the breakdown peaks in the spectrum whose compositions provide the information on the arrangement of the atoms within the molecule. Unfortunately, the mechanism of formation of the positive ions by electron bombardment is not understood, and for the elucidation of the molecular structure from the mass spectrum use is made of empirical rules based on a large number of published mass spectra which indicate correlations between structure and the breakdown pattern given by the mass spectra. An example of the use of these rules to identify an unknown compound is given.

A further advantage of mass spectrometry is that it is often possible to identify impurities and determine their concentration even in an almost pure substance without any previous concentration of the impurity. Due to the wide range of ion beam strengths with it is possible to deal in the mass spectrometer, impurities present to only a few parts per million can sometimes be identified and measured. An example of this type of analysis is given.

Zusammenfassung.

Die Analyse einer organischen Verbindung durch Massenspektrometrie besteht in dem Beschuss der bei 10^{-4} bis 10^{-6} mm Hg verdampften Verbindung mit Elektronen von 50 bis 100 V Energieinhalt. Diese Energie ist hinreichend, um die Moleküle in verschiedener Art zu zerlegen, wobei positive, negative und neutrale Bruchstücke gebildet werden. Trägt man die relative Menge der verschiedenen positiven Ionenarten gegen das Verhältnis Masse zu Ladung auf, so erhält man das Massenspektrum, mit dessen Hilfe man auf die Struktur der beschossenen Substanz schließen kann.

Das Verfahren ist auf Substanzen beschränkt, die genügend stabil sind, um sich bei dem angeführten Dampfdruck nicht zu zersetzen, obgleich weniger flüchtige Substanzen nach vorhergehender Pyrolyse untersucht werden können. Es handelt sich um eine Mikromethode, da weniger als 1 mg Substanz für die Gewinnung des Spektrums nötig ist und oft noch viel weniger gebraucht wird, um eine Verbindung zu identifizieren.

Die Behandlung der Probe wird im Detail beschrieben und die Zweckmäßigkeit der Reinigung der Substanz durch Chromatographie der Dampfphase vor der massenspektrophischen Untersuchung hervorgehoben, besonders wenn das Spektrogramm einer Mischung zu komplex ist, um eine vollständige Analyse zu ermöglichen.

Das Massenspektrometer bietet einige besondere Vorteile gegenüber anderen Verfahren der chemischen Analyse von hinreichend flüchtigen Substanzen. Wegen des niederen Druckes in der Ionisationskammer sind Zusammenstöße zwischen Molekülen und Ionen sehr unwahrscheinlich. Das schwerste Ion, das man erhält (mit Ausnahme jener, die schwere Isotopen enthalten), entsteht aus einem kompletten Molekül durch Abspaltung eines Elektrons. Dieses Ion kann man gewöhnlich erkennen und seine Masse genau feststellen. Es wird gezeigt, wie dadurch die Anzahl möglicher empirischer

Formeln eingeschränkt wird, selbst wenn die Genauigkeit der Messungen nur 1 auf 10^3 beträgt. Massenbestimmungen können aber leicht bis auf 1 oder 2 in 10^4 durchgeführt werden, was hinreicht, um die Unterschiede der Packungsenergien im Kern der Elemente aufzuzeigen. Oftmals kann man aus der Massenbestimmung allein die empirische Formel der unbekannten Verbindung aufschreiben. Weiteren Einblick in die empirische Formel ist aus der Bestimmung der Menge an natürlichen Isotopen zu gewinnen. Die Anwendung dieser Verfahren wird gezeigt.

So weit wurde die Bedeutung des „Primärons“ des Massenspektrums in Betracht gezogen, aber für die Aufklärung der Struktur müssen auch die den einzelnen Bruchstücken entsprechenden Spitzen (Maxima) im Spektrum herangezogen werden, deren Stellung Aufklärung über die Anordnung der Atome im Molekül geben. Leider ist die Bildung positiver Ionen durch Elektronenbeschuß nicht geklärt, so daß man sich bei der Deutung der Molekülstruktur aus dem Massenspektrum an empirische Regeln zu halten hat, die aus einer großen Zahl veröffentlichter Massenspektren, an denen die Beziehungen zwischen der Struktur und dem Abbaueschema, wie es das Massenspektrum zu erkennen gibt, zu entnehmen sind. Ein Beispiel für die Anwendung dieser Regeln auf die Identifizierung einer unbekannten Verbindung wird angeführt.

Ein weiterer Vorteil der Massenspektrographie besteht darin, daß oft die Möglichkeit zur Identifizierung von Verunreinigungen und deren Konzentrationsbestimmung auch in fast reinen Substanzen ohne vorherige Anreicherung dieser Verunreinigungen gegeben ist. Infolge der großen Länge der Ionen-Linien, mit denen man es beim Massenspektrometer zu tun hat, können mitunter Verunreinigungen identifiziert und gemessen werden, die nur in einigen Teilen pro Million anwesend sind. Ein Beispiel einer solchen Analyse wird dargelegt.

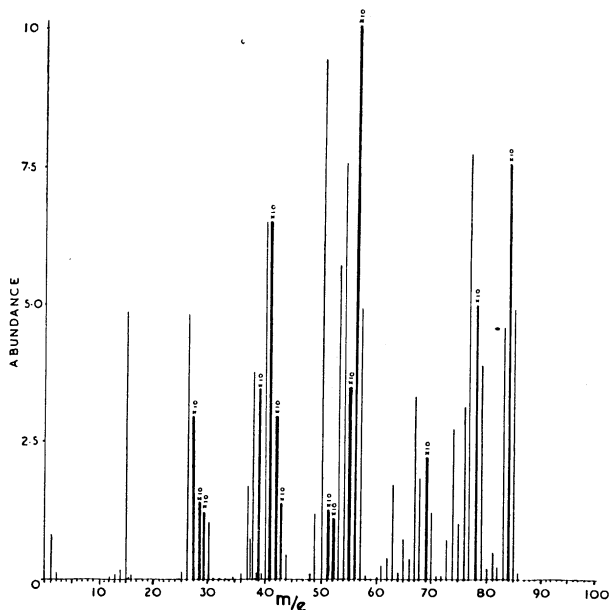
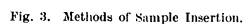
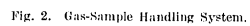


Fig. 1. Cyclohexane.



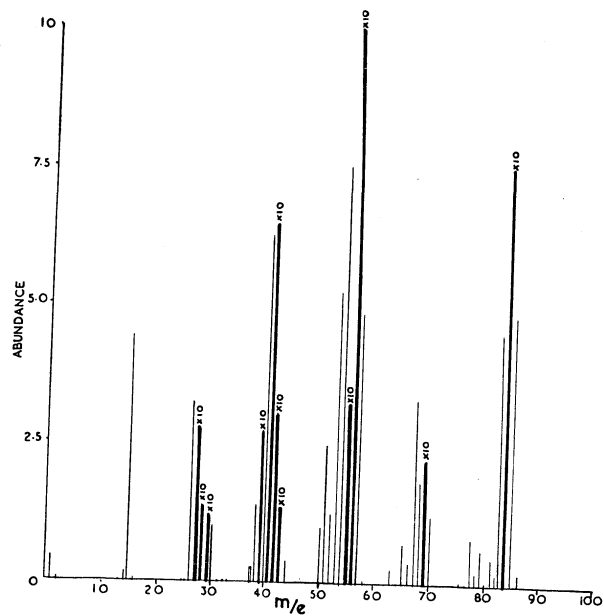


Fig. 4. Cyclohexane + Benzene.

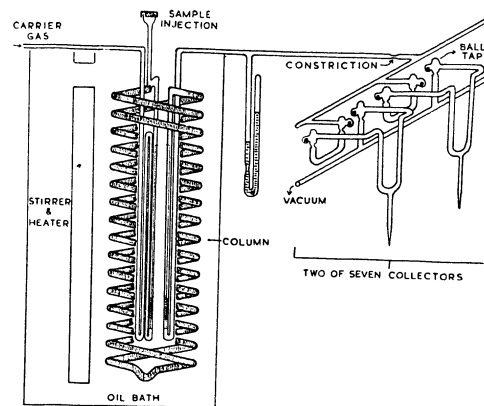


Fig. 5. Schematic Diagram of Vapour Phase Chromatograph.

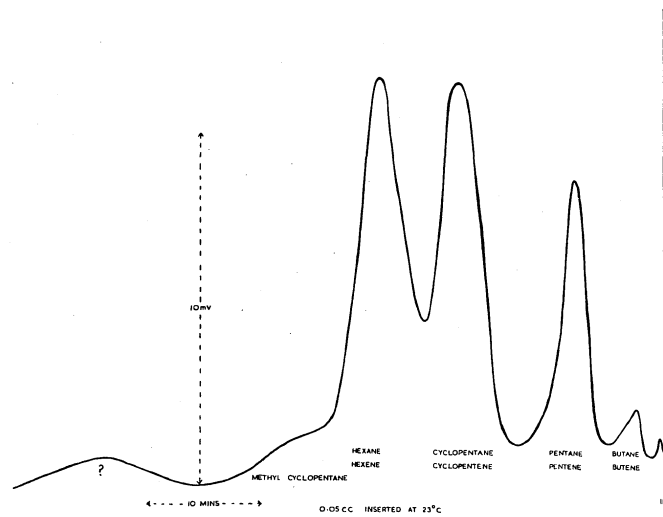


Fig. 6. Typical Chromatogram.

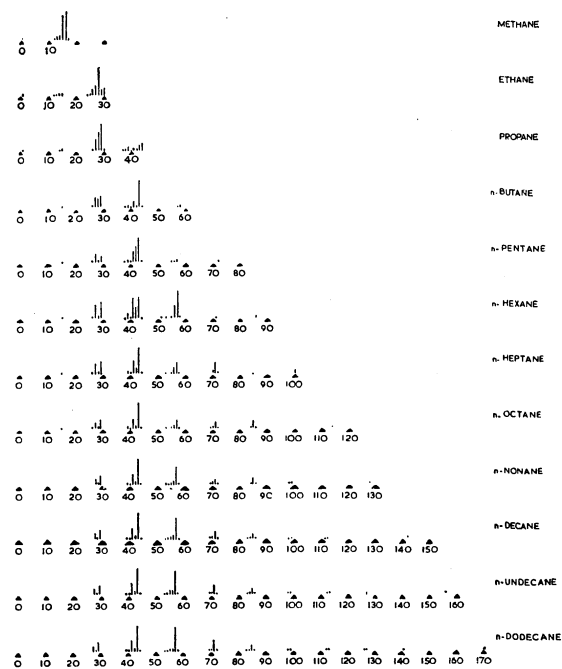


Fig. 7.

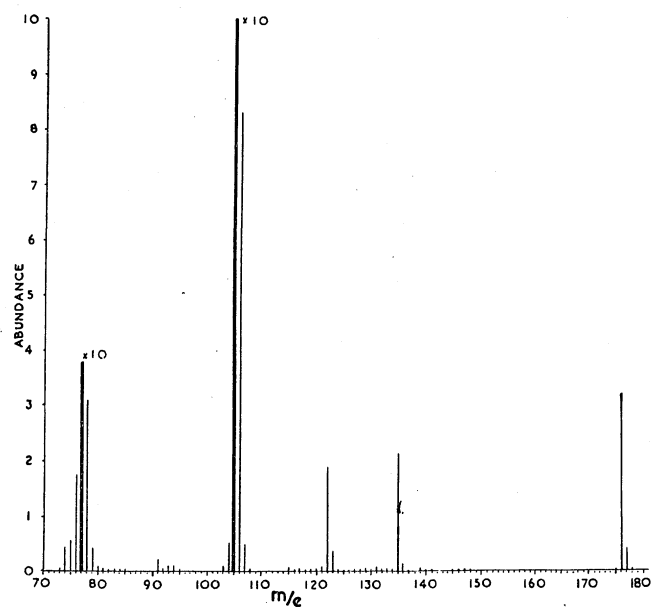


Fig. 8.

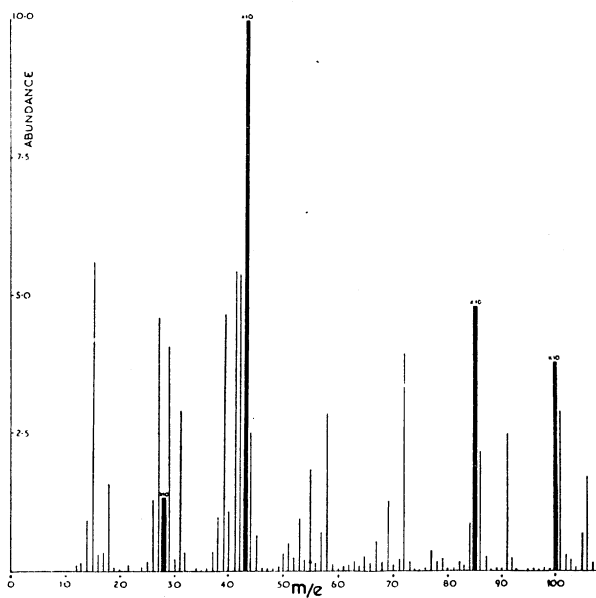


Fig. 9. Acetyl Acetone.

117d

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/21.

Zeilenanzahl: 213.

Aus der I. Medizinischen Universitätsklinik in Wien.

Die Preglsche Präzisionswägepipette und ihre Verwendung in der Medizin.

Von

H. Scheid.

Mit 6 Abbildungen.

(Eingelangt am 8. März 1955.)

Die Preglsche Präzisionswägepipette (PWP) dient zur einfachen und exakten Bestimmung des spezifischen Gewichtes von Flüssigkeiten¹. Es braucht nicht betont zu werden, daß bei ihrer Verwendung die in der Mikrochemie üblichen Vorsichtsmaßnahmen eingehalten wurden, u. a. zur Einhaltung der Gewichtskonstanz der Gebrauch von Zwirnhandschuhen, Aufbewahrung über Phosphorpentoxid. In erster Linie soll von denjenigen Veränderungen berichtet werden, die sich bei der Methode durch den Gebrauch von biologischen Flüssigkeiten, wie Serum, Plasma und Vollblut, ergeben haben.

Wegen des starken Haftvermögens dieser Flüssigkeiten mußte der eingetauchte Spitzenbereich der Pipette nach dem Aufsaugen zweimal mit Zellstoff abgewischt werden. Dabei konnte im Gegensatz zu *Balczó*² keine Volumsveränderung durch Reibung beobachtet werden.

(Abb. 1.) Erwähnt sei, daß bei dem von uns verwendeten Untersuchungsgut der Flüssigkeitsspiegel in dem zur Volumenmessung bestimmten Kapillarbereich keinen merklichen Meniskus zeigt. Bei vertikal gehaltener Pipette und geeigneter Lupe kann das Volumen auf 0,0001 ml abgelesen werden.

Einen großen Vorteil bietet dieses Mikrogerät gegenüber anderen zur Messung des spezifischen Gewichtes geeigneten Instrumenten durch seine Eichung auf Einguß. Dies spielt bei den von uns verwendeten biologischen Flüssigkeiten eine große Rolle. Füllt man Blut in ein Pyknometer, so haftet es bereits an den oberhalb der Marke befindlichen Glasteilen so fest, daß eine genaue Dichtebestimmung in Frage gestellt ist, ganz abgesehen davon, daß durch den Blutfilm am Glas eine Bestimmung der Flüssigkeitshöhe erschwert wird. Das Serum und noch im verstärkten Maße das Vollblut haben die unangenehme Eigenschaft, bei relativ geringem Schütteln Luftblasen zu bilden, die innerhalb eines kleinen Gefäßes nicht zum Verschwinden gebracht werden können. Aus diesem Grunde eignen sich Pyknometer mit geschliffenem Stopfen und Steigrohr nicht gut zur Bestimmung des spezifischen Gewichtes.

Trotz des kleinen Fassungsraumes der Pipette ist die Genauigkeit zufriedenstellend. So ist es möglich, an einem Patienten Serienbestimmungen durchzuführen, ohne daß der Blutverlust hämodynamisch in Erscheinung tritt.

Meist kann aus Gründen der Versuchsanordnung nicht unmittelbar nach dem Pipettieren bzw. nach der Volumenmessung gewogen werden. Daher wird die gefüllte Pipette im Exsikkator aufbewahrt. Es versteht sich nun, daß bei einem beidseits offenen Gefäß Verdunstung zumal in Gegenwart von Phosphorpentoxid leicht auftreten kann. Diesbezügliche Untersuchungen⁶ konnten zeigen, daß der Verdunstungsfehler bei Verwendung biologischer Flüssigkeiten um ein Vielfaches kleiner ist als bei Aqua dest. und daher nicht ins Gewicht fällt (Abb. 2).

Die PWP sind für die Normaltemperatur von 20° C geeicht, an die wir uns außer bei Untersuchungen des nativen Vollblutes halten. Nach 2 bis längstens 5 Minuten pflegt Blut einer gesunden Versuchsperson in einer

Epruvette von etwa 7 mm Durchmesser so weitgehend zu gerinnen, daß es beim Umschwenken nicht mehr abfließt. Auf Grund dieser Tatsache ist eine Temperaturmessung des frisch gewonnenen Blutes unmöglich. Es blieb daher nur der Ausweg offen, bei diesen Messungen einen Zeitfaktor einzuhalten. Bei Verwendung gleichkalibrierter Kanülen, die in die Ellenbogenvene eingeführt wurden, kam es in fast gleichen Zeitabständen zu fast gleichgroßen Tropfenbildungen in ein bereitgestelltes Uhrgläschen. Daraus wurde jeweils nach Einfall des fünften Tropfens das Blut innerhalb von 5 bis 7 Sekunden (Stoppuhr) in die Pipette aufgesaugt. Es darf unter diesen Umständen angenommen werden, daß dann der Temperaturabfall immer der gleiche ist, wenn auch auf Konstanz der Zimmertemperatur geachtet wurde.

Die Dichtewerte werden bis zur 4. Dezimale angegeben. Unter Benützung einer halbautomatischen, luftgedämpften analytischen Waage konnte unter Einhaltung dieser Methode bei ruhig liegenden Versuchspersonen, denen innerhalb von 30 Minuten mehrmals Venenblut entnommen wurde, folgende Meßgenauigkeit erzielt werden (Tab. 1). Daneben unsere gefundenen Mittelwerte. Die Bestimmung der Blutzellichte läßt sich auf Grund der Relation Blutwasser zu Blutkörperchen, dem Hämatokrit, nach folgender Formel durchführen.

$$D \text{ Blutzelle} = \frac{D \text{ Vollblut} \cdot 100 - D \text{ Serum} \cdot (100 - \text{Hämatokrit})}{\text{Hämatokrit}}$$

Tabelle 1.

	Fehlerbreite	Mittelwerte	
		Männer	Frauen
D Serum	± 0,0001 E	1,0232	1,0233
D Vollblut	± 0,0004 E	1,0527	1,0495
D Blutzelle . . .	± 0,0006 E		

Der dabei verwendete Hämatokritwert wird durch starkes Zentrifugieren von 10 cm hohen mit ungerinnbar gemachtem Blut beschickten Röhrchen gewonnen. Durch vier Einzelbestimmungen bei jedem Wert konnte eine Meßgenauigkeit von ± 1,0% erreicht werden.

Nachdem eine Beschreibung der Arbeitsmethode mit der PWP gegeben wurde, soll über die Brauchbarkeit und den Wert des Instrumentes in der Medizin berichtet werden.

1. *Pregl*¹ konnte 1925 durch Dichtebestimmung des mittels Uretererkatheters gewonnenen Harnes über die Funktionszustände der Niere beim Menschen Aussagen machen. Diese Mikromethode hat deshalb nicht größeren Anklang gefunden, weil einerseits die Chromocystoskopie wesentlich einfacher durchzuführen ist und in erster Annäherung befriedigende Resultate bringt. Andererseits ergeben die verschieden gearteten Clearance-Bestimmungen genaueren Einblick in eine pathologisch veränderte Nierenfunktion. Es sind das Untersuchungen, bei denen diejenige Substanzmenge eines im Blute in konstanter Höhe gehaltenen Stoffes bestimmt wird, die von der Niere in der Zeit und Volumeinheit aus dem Blute eliminiert wird.

2. Ein wichtiges Hilfsmittel zur Erkenntnis vieler krankhafter Zustände stellt die Ermittlung der Eiweißkonzentration im menschlichen Serum dar. Neben einer größeren Zahl von Bestimmungsmethoden wurde von *van Slyke* und Mitarbeitern eine lineare Abhängigkeit der Eiweißkonzentration von der Dichte des Serums gefunden. Diese wesentliche Entdeckung hat in der Literatur einen weiten Raum eingenommen, zumal bei der angegebenen Dichtebestimmung nur wenige Tropfen Untersuchungsmaterial nötig waren. Dabei wurde die Serumdichte nach der sog. „Schwebemethode“ bestimmt. Das Serum wurde so lange in eine Verdünnungsreihe von Kupfersulfat eingetropft, bis der Tropfen in der Lösung mit der gleichen Dichte eine kurze Zeit in Schwebe blieb. Die Grundidee dieser Methode stammt von *Hammerschlag*² und hat immer wieder in der Literatur heftige und berechtigte Angriffe ausgelöst. Wir stellten uns zur Aufgabe, mittels der PWP die Serumdichte und durch die bekannte Mikro-Kjeldahl-Methode den Gesamtstickstoff des Serums zu bestimmen.

Bekanntlich kann man unter Abzug des sog. Reststickstoffes, das ist die nach Enteiweißung übriggebliebene Stickstoffmenge, die Eiweißkonzentration mit einem Koeffizienten errechnen.

Abb. 3 zeigt den großen Unterschied zwischen unseren Ergebnissen⁷ und denen nach der Methode von *Phillips*⁴ und Mitarbeitern gewonnenen. Bei Umrechnung auf gleiche Untersuchungstemperatur vergrößert sich die durchschnittliche Differenz von 0,0026 auf 0,0041 Einheiten bei den Dichteangaben.

3. Abb. 4 stellt die von *Phillips*⁴ und Mitarbeitern empirisch gefundene Abhängigkeit zwischen den Dichten des Serums, des Vollblutes und dem Hämatokrit in einem Nomogramm dar⁸. Wir konnten an Hand von 400 Einzeluntersuchungen mit unserer Methode ein statistisch errechnetes Nomogramm (Abb. 5) dieser Größen einbringen. Es unterscheidet sich wesentlich von dem ersteren durch seinen linearen Aufbau, die Angabe seiner Fehlerbreite und die statistischen Daten. Der korrelative Zusammenhang dieser biologischen Größen deutet auf das Bestreben des Organismus hin, dem Blute eine möglichst konstante Viskosität zu gewähren, ein Mechanismus, der der Aufrechterhaltung der Isotonie an Wichtigkeit gleichkommt.

4. Zur Beurteilung hämodynamischer Fragestellungen ist die Größe der zirkulierenden Blutmenge und deren Veränderungen von großer Bedeutung. Es stehen uns dafür verschiedene Farbstoffmethoden zur Verfügung. Aus Gründen der schwer übersehbaren Adsorptionsphänomene an den Blut- und Gefäßwänden, pH-Verschiebungen des Serums und anderen kolloidchemischen Vorgängen sind diese Methoden so unverlässlich, daß selbst grobe Eingriffe in die Hämodynamik, wie die Panthocain-Lumbalanästhesie zu keinen signifikanten Veränderungen führten. Mit Hilfe der PWP ist es uns möglich geworden, einen tieferen Einblick in Gewebswasserverschiebungen im Organismus und in ihrem zeitlichen Ablauf zu gewinnen (Abb. 6). Es besteht ein Druckgefälle im Kapillargebiet, resultierend aus dem Blutdruck und dem entgegengerichteten kolloid-osmotischen Druck, der die normale Gewebsdurchflutung gewährleistet. Wird z. B. durch artefizielle Blutdruckerniedrigung dieses Gefälle geändert, so kommt es zu einem meßbar vermehrten Gewebswassereinstrom in die venöse Blutbahn⁹. Dabei ändert sich die Größe der Blutzellen nicht. Aus noch nicht veröffentlichten Arbeiten geht hervor, daß bei anderen pharmakologischen Eingriffen meßbare Flüssigkeitsverschiebungen nicht nur im System Gewebe-Blutwasser aufgezeigt werden konnten, sondern daneben auch solche zwischen Blutwasser und Blutzellen.

Erst der Anwendung dieser Mikromethode in vivo et vitro verdanken wir die Klärung vieler biologischer Fragestellungen.

Zusammenfassung.

Gegenüber der Benützung von wäßrigen Lösungen ergeben sich bei der Verwendung von biologischen Flüssigkeiten, wie Serum, Plasma und Vollblut, bei dem Gebrauch der *Preglschen* Präzisionswägenpipette gewisse methodische Schwierigkeiten. Es sind dies die Blutgerinnung, die Temperaturangabe bei Messung des nativen Vollblutes, das starke Haftvermögen an der Glaswand und die leichte Luftbläschenbildung. Trotzdem wird eine Genauigkeit erreicht, die für die Serumdichte $\pm 0,0001$, für die Vollblutdichte $\pm 0,0004$ E und für die Blutzelldichte $\pm 0,0006$ beträgt. Aus einem großen Untersuchungsmaterial konnten folgende Mittelwerte bestimmt werden: Serumdichte (Männer) 1,0232, (Frauen) 1,0233; Vollblutdichte (Männer) 1,0527, (Frauen) 1,0495. Eine Nachuntersuchung der Abhängigkeit der Eiweißkonzentration von der Serumdichte ergab, daß die Werte von *van Slyke*⁵ mit einem durchgehenden methodischen Fehler behaftet sind. Das empirisch aufgestellte Nomogramm von *Phillips* und Mitarbeitern, das einen Zusammenhang zwischen den Größen der Serum- und Vollblutdichte sowie des Hämatokrits bringt, wurde auf Grund unseres gewonnenen Untersuchungsmaterials statistisch berechnet. Es unterscheidet sich wesentlich durch die lineare Korrelation, die Angaben der statistischen Daten und die Fehlerbreite. Ferner konnte gezeigt werden, daß durch die Messung der Dichte des Serums, des Vollblutes und der

Blutzellen sowie durch die Bestimmung der Blutzellen-Blutwasser-Relation, dem Hämatokrit, tiefe Einblicke in die Hämodynamik des Kapillargebietes ermöglicht werden konnte. So war es möglich, Gewebswasser-verschiebungen sowohl im System Gewebe-Blutwasser, als auch solche zwischen Blutwasser und Blutzellen unter bestimmten Bedingungen aufzuzeigen.

Summary.

Certain methodologic errors are encountered in the use of Pregl precision weighing pipettes when biological liquids such as serum, plasma, and whole blood are used in place of aqueous solutions. These include coagulation of the blood, the temperature statement when measuring native whole blood, the decided adhesion to the glass wall, and the ready formation of air bubbles. Nevertheless, an accuracy is attained which amounts to ± 0.0001 for the density of serum, ± 0.0001 for whole blood, and ± 0.0006 for the density of blood cells. The following average values could be determined from a great mass of test material: Serum density (men) 1.0232, (women) 1.0233; density of whole blood (men) 1.0527, (women) 1.0495. A subsequent study of the relation of the albumin concentration to the serum density showed that the van Slyke values are vitiated by a pervading error. The empirical nomogram set up by Phillips and his associates, which provides a relation between the magnitudes of the serum- and whole blood density as well as of the sedimentation rate, was calculated statistically on the basis of the data obtained by the author. It differs essentially in the linear correlation, the statements of the statistical data, and the breadth of the error. Also it was shown that deep insight into the haemodynamics of the capillary region was made possible through the measurement of the density of the serum, the whole blood, and the blood cells as well as through the determination of the blood cell-blood serum relation and the sedimentation rate. In this way, it was possible to demonstrate shifts of tissue water both in the tissue-blood serum system and also those occurring between blood serum and blood cells under certain circumstances.

Literatur.

- ¹ F. Pregl, Wien. klin. Wschr. **38**, 663 (1925).
- ² H. Balczó, Z. analyt. Chem. **134**, 321 (1951).
- ³ A. Hammerschlag, Wien. klin. Wschr. **3**, 204 (1890).
- ⁴ R. A. Phillips, D. D. van Slyke, P. B. Hamilton, V. P. Dole, K. Emerson und R. M. Archibald, J. Biol. Chem. **183**, 305 (1950).
- ⁵ D. D. van Slyke, A. Hiller, R. A. Phillips, P. B. Hamilton, V. P. Dole, R. M. Archibald und H. A. Eder, J. Biol. Chem. **183**, 331 (1950).
- ⁶ H. Scheid, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 308.
- ⁷ H. Scheid, Z. ges. exper. Med. **124**, 201 (1954).
- ⁸ H. Scheid, Z. ges. exper. Med. **125**, 49 (1955).
- ⁹ H. Scheid, Arch. exper. Path. Pharmacol. **225**, 491 (1955); Arch. int. pharmacodyn. théor. **100**, 450 (1955); Z. Kreislaufforsch. im Druck.



Abb. 1. Präzisionswägepipette nach Pregl.

Männer

Vollblut D'
abhängig von S und H

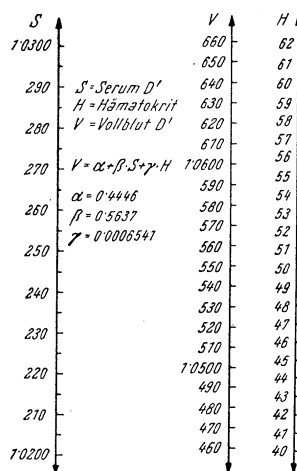


Abb. 5. Nomogramm, das die Vollblutdichte in Abhängigkeit von der Serumdichte und dem Hämatokrit bei Männern zeigt.

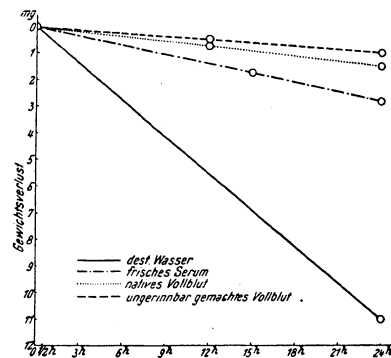


Abb. 2. Gewichtsverlust der mit verschiedenen Flüssigkeiten gefüllten Wägepipetten während 24 Stunden.

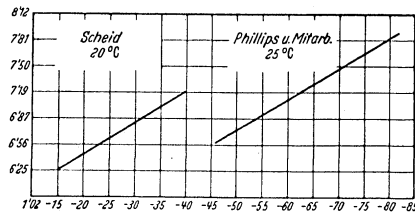


Abb. 3. Gegenüberstellung der Regressionsgeraden beider Bestimmungsmethoden hinsichtlich der Serumdichte (waagrecht) und der Eiweißkonzentration (senkrecht) in ihren Normalbereichen. Bei Umrechnung auf gleiche Untersuchungstemperatur vergrößert sich der durchschnittliche Abstand von 0,0026 auf 0,0041 Einheiten bei den Dichtewerten.

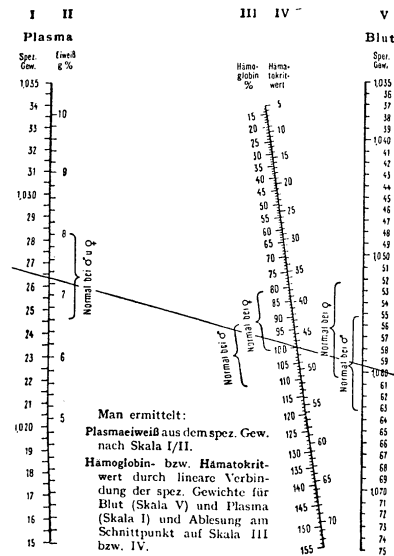


Abb. 4. Zusammenhang zwischen Eiweißgehalt des Plasmas, Hämatokrit und spezifischem Gewicht des Vollblutes nach Phillips* und Mitarbeitern.

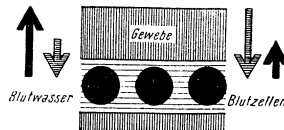


Abb. 5. Modelldarstellung der Gewebewasserdurchführung. Schwarzausgezogene Pfeile = Richtung und Größe des Blutdruckes im (il. arteriellen, re. venösen) Kapillarschenkel. Schraffierte Pfeile = kolloidosmotischer Druck. Kapillare, Blutwasser, Blutzellen, Gewebe.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/22.

Zeilenanzahl: 290.

Aus dem Institut für medizinische Chemie und Pregl-Laboratorium der Universität Graz.

Mikrotitrationen mit Äthylendiamintetra-essigsäure. XV.

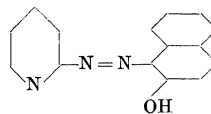
1-(2-Pyridyl-azo)-2-naphthol als komplexometrischer Indikator.

Von

H. Flaschka und H. Abdine.

(Eingelangt am 24. März 1955.)

Cheng und Bray¹ haben das 1-(2-Pyridyl-azo)-2-naphthol (PAN) hinsichtlich seiner Fähigkeit zur Bildung von Metallchelaten näher untersucht und konnten feststellen, daß es mit einer ganzen Reihe von Metallen stabile, zum Teil sehr intensiv gefärbte Komplexe gibt. Dies ist keineswegs überraschend, wenn man die Formel der Verbindung betrachtet: Die Substanz selbst sowie die Metallkomplexe sind in organischen Lösemitteln löslich, was PAN als Extraktionsreagens geeignet macht. Daneben haben Cheng und Bray PAN auch als komplexometrischen Indikator erprobt und Zink (bei pH 5 bis 7) und Kupfer (in essigsaurer Lösung) mit Komplexonmaßlösung titriert. Sie versetzen die kupferhaltige Probelösung mit etwas Eisessig und methanolischer PAN-Lösung und titrieren mit 0,1-m Komplexon bis zum Farbwechselrot über violett (Kupfer-PAN-Komplexe) nach grüngelb (Mischfarbe des blauen Kupferkomplexonates mit dem Gelb des freien PAN). Wir haben versucht, dieses Verfahren beim Kupfer und auch einigen anderen mit PAN reagierenden Metallen unter Verwendung von 0,01-m und noch verdünnteren Maßlösungen zu verwenden, mußten aber feststellen, daß die Übertragung in den Mikromaßstab nur nach einigen Änderungen möglich war.



Titriert man Mikromengen Kupfer direkt gegen PAN auf Gelb, so wird nur dann ein korrektes Resultat erhalten, wenn man nahe dem Endpunkt mit extrem langsamer Tropfenfolge arbeitet, da der Kupfer-PAN-Komplex im sauren Medium äußerst träge reagiert. Durch Erhitzen der Lösung kann man beim Kupfer diesem Übel abhelfen und zu üblichen Titrationsgeschwindigkeiten gelangen. Beim Nickel aber z. B. genügt auch ein Erwärmen nicht mehr, um ein normales Arbeitstempo zu erzielen.

Derartige Schwierigkeiten bei der Einstellung des Endpunktes einerseits und die geringe Intensität der Farbe mancher Metallkomplexe andererseits, legten es daher nahe, generell auf eine direkte Titration zu verzichten und das Prinzip der Rücktitration anzuwenden. Die Metallsalzlösung wird mit Essigsäure, PAN und Komplexon versetzt und dessen Überschuß sodann mit einer Kupfermaßlösung zurückgemessen. Titriert man hierbei auf Violett, so ist ein, wenn auch nur sehr geringer, so doch merklicher Kupferüberschuß nötig. Man kann ihn aber unschwer durch eine Indikator Korrektur berücksichtigen.

Bei Titrationen in 50 bis 100 ml Probevolum beträgt er für eine 0,01-m Maßlösung 0,05 ml.

Korrekturfrei arbeitet man, wenn die auf eben Violett gebrachte Lösung mit Komplexon auf Gelb zurücktitriert wird, wobei man in sehr langsamer Tropfenfolge vorzugehen hat. Letztere Vorsichtsmaßnahme erübrigt sich, wenn in heißer Lösung gearbeitet wird.

Auf diese Art kann man, wie in vorliegender Arbeit ausgeführt wird, nicht nur Kupfer, sondern auch Zink, Nickel, Cadmium, Kobalt, Blei und sicherlich noch einige andere Metalle titrieren. Für das Gallium ist die An-

wendung des Verfahrens bereits mitgeteilt worden².

Alle diese Metalle sind auch mit anderen Indikatoren komplexometrisch titrierbar. Das wesentliche der neuen Methode besteht jedoch darin, daß in essigsaurer Lösung gearbeitet wird. Das bedeutet, daß man nicht nur neben den Erdalkalien (auf die schon *Cheng* hingewiesen hat), sondern auch neben nicht zu großen Mengen Mangan titrieren kann. Für Titrationen in schwach saurem Medium stand bisher allgemein verwendbar nur die Redox-Indikation nach *Brown* und *Hayes*^{3, 4} zur Verfügung. Hierbei wird ein Komplexüberschuß mit Zinkmaßlösung bei pH 5 zurückgemessen. Bei diesem pH-Wert stören die Erdalkalien auch noch nicht, wohl aber bereits Mangan, wenn mehr als nur Spuren davon vorhanden sind. Die Störung tritt ein, obwohl es unmöglich ist, Mangan auf diesem Wege selbst zu titrieren.

Ein weiterer Vorteil des PAN gegenüber der *Brown-Hayes*schen Indikation ist, daß Reduktions- und Oxydationsmittel die Anzeige nicht stören, es sei denn, sie sind derart stark, daß die komplexometrische Titration als solche unmöglich wird.

Wir versuchten, auch Aluminium nach dem neuen Verfahren zu bestimmen. Bei der Rücktitration des Komplexonüberschusses mit Kupfer bleicht jedoch die violette Farbe immer wieder aus und bleibt erst bestehen, wenn beträchtlich zu viel Kupfer zugegeben worden ist. Das heißt, daß das Aluminium durch Kupfer aus dem Komplexonat verdrängt wird, obwohl PAN als Konkurrent vorhanden ist. Ein Zeichen für die bemerkenswert hohe Stabilität des Kupferkomplexonates in saurer Lösung.

Besonders interessant ist das Verhalten des Kupfer-PAN-Komplexes in ammoniakalischem Medium. Die Titrationen aller schon genannten Metalle können hier ebenfalls durchgeführt werden, indem man nach Zusatz von PAN und Komplexonüberschuß mit einem Puffer pH 10 versetzt, dann mit Kupfer auf Violett und mit Komplexon schließlich auf Gelb titriert. Bemerkenswert ist, daß der Umschlag nach Gelb in ammoniakalischer Lösung auch in der Kälte fast momentan erfolgt. Das Erwärmen der Probelösung ist hier zwar auch zu empfehlen, aber nicht unbedingt nötig. Allerdings werden in ammoniakalischer Lösung Calcium, Magnesium und Mangan mittitriert. Mangan reagiert selbst mit PAN, Calcium und Magnesium jedoch nicht. Doch genügt deren Anwesenheit, um eine zur Bildung des violetten PAN-Kupfer-Komplexes nötige Menge von Kupfer aus dem Komplexonat zu verdrängen.

Dies eröffnet neue Perspektiven. Die Titrationen von Calcium und Magnesium gegen Eriochromschwarz T, wie sie bisher immer durchgeführt wurden, werden durch Spuren von Schwermetallen gestört, was die Zugabe von Kaliumcyanid, Hydroxylamin, Triäthanolamin usw. zur Tarnung oder Ausschaltung nötig machte. PAN wird nicht wie das Eriochromschwarz T durch die genannten Metalle blockiert, so daß man die Titrationen ohne weitere Zusätze durchführen kann. Dies scheint ein nicht unwesentlicher Vorteil des Indikators zu sein, neben dem in solchen Fällen allerdings auch eine kleine Menge von Kupferkomplexonat zugesetzt werden muß.

Man hat aber ferner auch noch die Möglichkeit, ein Schwermetall und z. B. Magnesium in ein und derselben Lösung hintereinander zu bestimmen. Man titriert erst in essigsaurer Lösung das Schwermetall durch Zurückmessen des Komplexonüberschusses mit Kupfer. Die auf rein Gelb titrierte Lösung wird nun durch Ammoniakzugabe alkalisch gemacht und das Magnesium bestimmt.

Ein derartiges Verfahren eröffnet auch den Weg, Komplexonate von Erdalkalien rasch zu analysieren, was im Hinblick auf die steigende Verwendung solcher Verbindungen zu therapeutischen Zwecken von praktischem Wert erscheint. Doch soll darüber an geeigneter Stelle referiert werden.

Lösungen und Reagenzien.

Komplexonmaßlösung 0,0100-m. 3,722 g Komplexon III wurden in bidestilliertem Wasser zu 1 Liter gelöst.

Metallsalzlösungen wurden aus analysenreinen Präparaten herge-

stellt und, soweit nicht aus der Einwaage errechenbar, ihr Gehalt durch Titrationen mit Komplexon nach bekannten Verfahren ermittelt.

Puffer pH 10. 13,5 g Ammoniumchlorid p. a. und 88 ml konz. Ammoniak p. a. werden in bidestilliertem Wasser zu 250 ml gelöst.

PAN-Indikator, 0,1% in Methanol.

Essigsäure, 60%.

Arbeitsvorschrift.

a) In saurem Medium.

Die nötigenfalls annähernd neutralisierte Probelösung wird mit 2 bis 3 Tropfen Essigsäure je 50 ml Probe und einem Komplexonüberschuß versetzt. Man erwärmt die Lösung auf etwa 70° bis 80° C, setzt 1 bis 2 Tropfen PAN zu und titriert mit 0,01-m Kupfermaßlösung auf Violett. Sodann bringt man mit Komplexonmaßlösung auf eben Gelb. Je nach der Menge vorhandenen Kupfers wird durch die blaue Farbe des Kupferkomplexonates die Gelbfärbung nach mehr oder weniger grünlich verschoben. Der Umschlag erfolgt dann von violett über grau nach grünlichgelb.

b) In ammoniakalischem Medium.

Die Probe wird nach eventuell vorausgegangener Neutralisation mit Komplexonüberschuß, Puffer pH 10 und PAN versetzt, erwärmt und wie oben beschrieben titriert.

Berechnung. $(V_K \cdot M_K - V_{Cu} \cdot M_{Cu}) \cdot A = \text{mg Metall.}$

Hierin bedeuten V_K und M_K verbrauchte Milliliter und Molarität der Komplexonlösung, die mit Cu indizierten Buchstaben die entsprechenden Größen der Kupferlösung. A ist das Atomgewicht des zu titrierenden Metalles.

Bemerkungen.

Die Titrationen in saurem und ammoniakalischem Medium können auch unmittelbar hintereinander in ein und derselben Probelösung vollzogen werden. Um von der Ungenauigkeit, die durch den Tropfenfehler bedingt ist, weitgehend unabhängig zu werden, empfiehlt es sich, den Endpunkt von Violett auf Gelb mehrmals einzustellen und das Mittel mehrerer Ablesungen an der Komplexon- und Kupferbürette als Grundlage der Berechnung zu nehmen.

Tabelle 1. Titrationen einiger Metalle in saurer Lösung.

Metall	ml 0,0100-m Komplexon		
	berechnet	gefunden	Differenz
Cu	1,27	1,28	+ 0,01
	1,36	1,36	± 0,00
	2,28	2,27	- 0,01
	5,65	5,70	+ 0,05
	6,23	6,21	- 0,02
	6,92	6,94	+ 0,02
Ni	4,00	4,00	± 0,00
		3,99	- 0,01
		4,02	+ 0,02
		3,97	- 0,03
Co	4,27	4,26	- 0,01
		4,29	+ 0,02
		4,26	- 0,01
Zn	4,22	4,23	+ 0,01
		4,24	+ 0,02
Pb	4,03	4,07	+ 0,04
		4,00	- 0,03
		4,03	± 0,00
		4,04	+ 0,01
Fe	4,02	4,07	+ 0,05
		4,05	+ 0,02
		4,06	+ 0,04
		4,06	+ 0,04

Die Genauigkeit der Bestimmungen ist auch beim PAN-Indikator etwa 1 bis 2 Tropfen der 0,01-m-Lösungen. Tabelle 1 läßt dies erkennen. Es ist anzunehmen, daß außer den von uns untersuchten Metallen auch noch andere auf diesem Wege zu erfassen sein werden.

Alle in Tabelle 1 genannten Metalle lassen sich mit der gleichen Genauigkeit auch in ammoniakalischem Medium titrieren, so daß von einer gesonderten Auführung Abstand genommen wurde. Als einzige Ausnahme ist das Eisen zu erwähnen, das bei Anwesenheit in größeren Mengen durch die intensiv rote Färbung des oberhalb von pH 7 existenten Hydroxokomplexonates stört. In Tabelle 2 sind daher nur einige Resultate der Titrationen von Calcium, Magnesium und Mangan angeführt.

Tabelle 2. Titrationen einiger Metalle in ammoniakalischer Lösung.

Metall	ml 0,0100-m Komplexon		
	berechnet	gefunden	Differenz
Ca	1,26	1,24	+0,02
	1,89	1,88	-0,01
		1,87	-0,02
	2,21	2,16	-0,05
	2,83	2,83	±0,00
	3,16	3,17	+0,01
Mg	4,21	4,23	+0,02
		4,24	+0,03
	1,64	1,67	+0,03
	1,85	1,85	±0,00
	2,82	2,81	-0,01
	4,65	4,61	-0,04
Mn		4,66	+0,01
	4,26	4,28	+0,02
		4,26	±0,00
		4,25	-0,01
		4,27	+0,01

Tabelle 3 enthält einige Paartitrationen. Hier haben wir bei dem im ammoniakalischen Medium titrierten Metall mit einer größeren Fehlerbreite zu rechnen. Bei mehrfachem Einpendeln des Endpunktes der sauren Titration erfolgt zwar die Minderung des Fehlers durch Mittelwertbildung; der Fehler der letzten Einstellung an den Büretten geht jedoch in die zweite Titration ein und summiert sich u. U. mit deren Fehler. Doch sind auch diese Werte lediglich mit noch durchaus tragbaren Schwankungen behaftet.

Tabelle 3. Titrationen von zwei Metallen hintereinander in derselben Lösung nach pH-Wechsel.

Sauer titriertes Metall	ml 0,0100-m Komplexon			Alkalisch titriertes Metall	ml 0,0100-m Komplexon		
	berechnet	gefunden	Differenz		berechnet	gefunden	Differenz
Pb	4,05	4,07	+0,02	Mg	4,15	4,14	-0,01
		4,05	±0,00			4,15	±0,00
		4,06	+0,01			4,13	-0,02
	1,89	1,88	-0,01	Ca	4,24	4,21	-0,03
	3,76	3,71	-0,05				
	2,32	2,31	-0,01				
Ni				Mn	4,12	4,15	+0,03
	2,10	2,09	-0,01		4,12	4,10	-0,02
	4,15	4,12	-0,03	Mg	4,15	4,18	+0,03
	2,18	2,22	+0,04		2,08	2,10	+0,02
	5,05	4,99	-0,06	Ca	8,48	8,43	-0,05
	2,42	2,42	±0,00		4,24	4,32	+0,08
	4,26	4,22	-0,04	Mn	4,12	4,13	+0,01
					4,12	4,19	+0,07

Herrn Dr. K. L. Cheng, Storrs, Conn. USA, hat uns PAN-Indikator überlassen und von seinen in Druck befindlichen Arbeiten Mitteilung

gemacht. Die Fa. B. Siegfried, Zofingen, Schweiz, stellte uns die Komplexeonpräparate zur Verfügung. Den Genannten auch an dieser Stelle unseren herzlichsten Dank auszusprechen, ist gerne erfüllte Pflicht.

Zusammenfassung.

1-(2-Pyridyl-azo)-2-naphthol (PAN) wurde als Indikator bei komplexometrischen Mikrotitrationen in essigsaurem Medium untersucht. Wegen der Farbschwäche einiger Metall-PAN-Komplexe und wegen der Langsamkeit, mit der manche von ihnen reagieren, empfiehlt es sich nicht, mit Komplexeon direkt zu titrieren, sondern besser einen Komplexeonüberschuß mit Kupfermaßlösung zurückzumessen. Titriert man hierbei auf die sich rasch einstellende violette Farbe des Kupfer-PAN-Komplexes, so ist eine kleine Indikatorkorrektur in Rechnung zu stellen. Titriert man die violette Lösung mit Komplexeon auf Gelb zurück, so erübrigt sich eine Korrektur, man muß aber wegen der Reaktionsträgheit des Indikator-komplexes in heißer Lösung arbeiten. Die Titration in essigsaurer Lösung erlaubt es, in Gegenwart von Erdalkalien und nicht zu großen Mengen Mangan zu arbeiten. Über die Bestimmung von Ni, Co, Zn, Cd, Cu, Pb und Fe wird berichtet. Aluminium kann nicht bestimmt werden. Die genannten Metalle können auch in ammoniakalischem Medium titriert werden. In solch einer Lösung wird durch Ca, Mg und Mn eine teilweise Verdrängung des Kupfers aus dem Komplexeonat bewirkt, so daß auch deren Bestimmung möglich wird. Der Vorteil dieser Titration gegenüber der gegen Eriochromschwarz T liegt darin, daß PAN durch Metallspuren von Cu, Fe, Mn, Al, Ti usw. nicht gestört wird. Die Titrationen in saurem und ammoniakalischem Medium können nacheinander in ein und derselben Lösung vollzogen werden, wodurch es möglich ist, zwei Metalle hintereinander zu bestimmen, z. B. Ni-Mg, Zn-Mn oder Fe-Ca.

Summary.

1-(2-pyridyl-azo)-2-naphthol (PAN) was tested as indicator in complexometric microtitrations in acetic acid medium. Because of the weak color of some metal-PAN-complexes and because of the sluggishness, with which some of them react, it is not advisable to titrate directly with complexone. It is better to backtitrate an excess of complexone with a standardized copper solution. If one titrates to the rapidly established violet of the copper-PAN complex, a small indicator correction must be applied. However, if the violet solution is titrated back to yellow with complexone, no correction is needed, but because of the sluggish reactivity of the indicator complex it is necessary to work in hot solution. Titration in acetic acid solution permits working in the presence of alkaline earths and not too large amounts of manganese. A report is given on the determination of Ni, Co, Zn, Cd, Cu, Pb, and Fe. Aluminium cannot be determined. The metals just listed can likewise be titrated in ammoniacal medium. In such surroundings, calcium, magnesium, and manganese partially displace copper from the complexonate so that their determination likewise becomes possible. The advantage of this titration in contrast to eriochrome T lies in the fact that PAN is not disturbed by traces of Cu, Fe, Mn, Al, Ti, etc. The titrations in acid and ammoniacal medium may be made in succession in the same solution and it thus becomes possible to determine two metals in succession, for instance Ni-Mg, Zn-Mn, or Fe-Ca.

Literatur.

- ¹ K. L. Cheng und R. H. Bray, *Analyt. Chemistry*, im Druck.
- ² H. Flaschka und H. Abdine, *Mikrochim. Acta* [Wien] **1954**, 657.
- ³ E. G. Brown und T. J. Hayes, *Analyt. Chim. Acta* **9**, 6 (1953).
- ⁴ H. Flaschka und W. Franschitz, *Z. analyt. Chem.* **144**, 421 (1955).

Aus dem Institut für anorganische Technologie und analytische Chemie der
Technischen Hochschule Graz.

Über die kolorimetrische Bestimmung von Niob mit Tiron.

Von

H. Flaschka und E. Laßner.

Mit 3 Abbildungen.

(Eingelangt am 24. März 1955.)

Wäßrige Lösungen der dreiwertigen Kationen von Chrom, Mangan, Kobalt und Eisen, die bereits eine Eigenfarbe besitzen, zeigen bei der Bildung von Komplexonaten (Chelate der Äthylendiamintetraessigsäure) eine beträchtliche Farbvertiefung, was für die drei Erstgenannten von *Pribil* und Mitarbeitern¹ und für das Eisen von *Nielsen*² zur photometrischen Bestimmung der Metalle herangezogen wurde. Wir erprobten es, auf dieser Basis auch das zur dreiwertigen Stufe reduzierte Niob zu bestimmen, doch führten die Experimente zu keinem positiven Ergebnis.

Es wurden nun Versuche angestellt, eine Komplexbildung mit Tiron nutzbringend zu verwerten. Tiron (Brenzcatechin-3,5-disulfonsäure) wurde bereits von *Yoe* und Mitarbeitern zur kolorimetrischen Bestimmung von Eisen³, Titan⁴ und Molybdän⁵ verwendet. Auf Grund der Reaktionsanalogie zwischen Titan und Niob³ war eine Farbreaktion durchaus zu erwarten.

Bei Zusatz einer wäßrigen Lösung von Tiron zur mit Zink reduzierten Nioblösung zeigte sich eine deutliche Vertiefung der Farbe, die auf Komplexbildung hindeutete. Dies wurde weiterhin dadurch bestätigt, daß sich das Niob auch bei alkalischer Reaktion in Lösung halten ließ. An der Flüssigkeitsoberfläche zeigte sich jedoch ein merklicher Einfluß des Luftsauerstoffes, was an einer Aufhellung zu erkennen war. Dies setzte natürlich einer photometrischen Bestimmung große Schwierigkeiten entgegen.

Überraschenderweise bildet jedoch auch das fünfwertige Niob ein stabiles Tironat von intensiv gelber Farbe. Überraschend deshalb, weil dem Tiron verwandte Substanzen, wie Pyrogallol, Brenzcatechin und andere mehr, mit Niob nicht, wohl aber mit Tantal⁶ färbige Verbindungen geben. Hier ist es jedoch gerade umgekehrt. Niob reagiert unter Farbänderung, während Tantal ohne Einfluß ist. Der Komplex ist von relativ hoher Säurekonzentration an (etwa 5-n an HCl) bis in den alkalischen Bereich stabil. Die Farbe ist zeitlich konstant. Bei steigendem pH ist eine Farbschwächung zu verzeichnen. Im ammoniakalischen Bereich geht das Gelb in Grün über, beim Ansäuern kehrt die ursprüngliche Farbe wieder. Es dürfte sich dabei analog dem Eisen⁴ um eine Änderung der Komplexzusammensetzung handeln.

Bei einer Acidität von 1- bis 2-n Salzsäure stört außer Vanadin⁵, das einen intensiv blaviolett gefärbten, instabilen Komplex bildet, kein anderes Metall durch Tironatbildung.

Dreiwertiges Eisen stört durch die Gelbfärbung in salzsaurer Lösung. Durch Reduktion zur zweiwertigen Stufe läßt sich dieses Übel beheben. Als Reduktionsmittel wurden sowohl Zinn-(2)-chlorid als auch Ascorbinsäure verwendet. Letztere bildet zwar mit einer Reihe von Metallen Komplexe, die aber erst bei höheren pH -Werten stabil sind⁸. Das für die Reduktion zugesetzte Zinn verursacht sowohl in zwei- als auch in vierwertiger Form keine Störungen.

Die mit einem Spektralphotometer Beckman DU aufgenommene

Absorptionskurve (Abb. 1) zeigt im Bereich des sichtbaren Lichtes kein Maximum. Dieses liegt im nahen UV, wie Messungen mit einem Zeiß-Opton ergaben*. Die analytischen Messungen wurden mit einem

* Für die Durchführung der Messungen danken wir Herrn Dozent Dr. E. Schauenstein, Graz, auch hier aufs herzlichste.

lichtelektrischen Kolorimeter nach B. Lange (Blaufilter, 20 ml KPG-Küvetten) durchgeführt, und zwar wurde mittels einer Eichkurve gearbeitet. Bei der Überprüfung einer anfänglich aufgenommenen Eichkurve ergaben sich starke Schwankungen hinsichtlich der Reproduzierbarkeit der einzelnen Werte. Das nähere Studium der Verhältnisse zeigte, daß die Intensität der Gelbfärbung einerseits von der Säurekonzentration, andererseits auch von der zugegebenen Menge an Tiron abhängig ist. Messungen mit variierender Säurekonzentration ergaben ein deutliches Maximum bei einer Lösung, die etwa 1,6-n an Salzsäure ist (Abb. 2). Hält man, was unschwer möglich ist, Säure- und Tironkonzentration konstant, ergeben sich gut reproduzierbare Werte.

Experimentelles.

Lösungen und Reagentien:

Niobpentachloridlösung: Es wurde von käuflichem Niobpentoxyd ausgegangen. Der Aufschluß wurde nach H. Schaefer und C. H. Pietruck⁹ durch fünfständiges Erhitzen im Bombenrohr, bei einer Temperatur von 280° C mit Tetrachlorkohlenstoff durchgeführt. Hierbei ist für den quantitativen Verlauf der Reaktion frisch destillierter und vollkommen wasserfreier Tetrachlorkohlenstoff notwendig. Es hat sich auch als vorteilhaft erwiesen, das Oxyd vor dem Aufschluß zu glühen. Nach Abkühlen und Öffnen des Rohres destilliert man den Tetrachlorkohlenstoff im Vakuum ab, löst das Chlorid in 5 ml konz. Salzsäure und stabilisiert nach O. Klawora¹⁰ sofort mit 10 ml einer kalt gesättigten Ammoniumchloridlösung. Diese Lösung wird je nach Einwaage auf das gewünschte Volumen aufgefüllt. Bei weiterem Verdünnen als auf 100 ml ist darauf zu achten, daß weder die Salzsäure- noch die Ammoniumchloridkonzentration absinken, da sonst sehr leicht Hydrolyse eintritt. Man verwendet zum Verdünnen am besten die nachstehend beschriebene Lösung.

Salzsäure-Ammoniumchlorid-Lösung: 100 ml einer kalt gesättigten Ammoniumchloridlösung und 50 ml konz. Salzsäure werden mit Wasser zu 1 Liter aufgefüllt.

Tironlösung: 2,5%ige wäßrige Lösung. Die Konzentration ist nicht wesentlich. Man muß nur Messung und Eichung mit der gleichen Lösung durchführen. Es wird darauf verwiesen, daß das zu Indikatorzwecken käufliche Präparat meist wechselnde Mengen Natriumchlorid enthält.

Tantalösung: Ausgehend von Tantalpentoxyd verfährt man wie bei der Nioblösung beschrieben.

Die sonst verwendeten Metallsalzlösungen wurden aus p. a. Präparaten hergestellt und ihr Metallgehalt nach bekannten Verfahren ermittelt.

Ascorbinsäure, fest.

Aufnahme der Eichkurve (Abb. 3):

Aus einer Bürette werden variierende Mengen Niobpentachloridlösung in ein 50-ml-Maßkölbchen eingemessen. Hierauf setzt man 4 ml konz. Salzsäure ($d = 1,19$) zu, um die vorgeschriebene Säurekonzentration zu erreichen. Dieser Lösung fügt man 5 ml Tironlösung zu und füllt mit Salzsäure-Ammoniumchlorid-Lösung bis zur Marke auf. Nach gutem Durchmischen kann sofort photometriert werden.

Arbeitsvorschrift:

Zur Durchführung der Analysen trägt man die Probelösung in ein 50-ml-Maßkölbchen ein, versetzt mit Salzsäure, um die Endkonzentration von etwa 1,6-n zu erreichen, und verfährt dann wie oben zur Aufnahme der Eichkurve beschrieben. In Gegenwart von Eisen setzt man zu dessen Reduktion etwas feste Ascorbinsäure zu.

Über die nach diesem Verfahren erhaltenen Resultate informiert

der in Tabelle 1 enthaltene Auszug aus einer großen Reihe von Werten. Wie man erkennt, ist mit einer mittleren Abweichung von etwa $2 \mu\text{g/ml}$ zu rechnen. Dies ist beim Arbeiten mit dem 50-ml-Kölbchen ein absoluter Wert von 0,1 mg bei Niobmengen von 2,5 bis 8,5 mg. Man sieht ferner, daß die Anwesenheit selbst beträchtlicher Mengen Tantal, Eisen und Zinn ohne Einfluß auf das Ergebnis ist.

Tabelle 1.

Niob-Konzentration in $\mu\text{g/ml}$			Zusätze: Konzentration in $\mu\text{g/ml}$
gegeben	gefunden	Differenz	
55	56	+1	
52	53	+1	61 Ta
52	53	+1	200 Fe, 600 Sn (zwei- und vierwertig)
68	69	+1	182 Ta
90	92	+2	61 Ta, 400 Fe
105	109	+4	122 Ta
105	107	+2	52 Ta, 400 Fe
105	106	+1	243 Ta
114	112	-2	122 Ta, 200 Fe
157	159	+2	182 Ta
157	157	0	122 Ta, 200 Fe
170	170	0	310 Ta, 400 Fe

Der Fa. B. Siegfried, Zofingen, Schweiz, die uns Tiron zur Verfügung stellte, sei auch an dieser Stelle bester Dank ausgesprochen.

Zusammenfassung.

Es wird über Versuche berichtet, Niob(3) mit Komplexon zu einem gefärbten Komplex reagieren zu lassen. Es konnte kein Ergebnis erzielt werden. Wohl aber bildet Tiron mit Niob(3) einen gefärbten Komplex, der jedoch gegen Lufoxydation nicht beständig ist. Es wurde gefunden, daß auch Niob(5) einen Komplex bildet, der intensiv gelb gefärbt ist und in einem Bereich von etwa 5-n an Salzsäure bis ins Alkalische beständig bleibt. Farbänderung im alkalischen nach grünlich deutet auf einen Wechsel der Zusammensetzung hin. Die zeitlich konstante Gelbfärbung im sauren Gebiete ist von der Salzsäuremenge und Tironkonzentration abhängig, die beide leicht eingehalten werden können. Bei der kolorimetrischen Bestimmung des Niob im Lange-Kolorimeter mit Blaufilter stört nur Vanadin(5), das einen blauen instabilen Komplex bildet. Eisen stört durch die Gelbfärbung seines Chlorides; diese Störung kann durch Reduktion mittels Ascorbinsäure ausgeschaltet werden. Der mittlere Fehler von Bestimmungen an 2,5 bis 8,5 mg Niob in 50 ml Lösung beträgt 0,1 mg. Bestimmungen neben der drei- und mehrfachen Menge Tantal, Eisen und Zinn zeigten keine Vergrößerung des Fehlers.

Summary.

A report is given of attempts to produce a colored complex with niobium (III). No result was obtained. Tiron does form a colored complex with niobium (III) but it is not stable against air-oxidation. It was found that niobium(V) also forms a complex (deep yellow) which is stable in a range from about 5 N hydrochloric acid to basic. Color changes toward greenish in the basic region point to a change in composition. The life of the yellow color in the acid region is dependent on the amount of hydrochloric acid and the concentration of tiron, and both of these are easy to maintain. The colorimetric determination of niobium in the Lange colorimeter with blue filter is interfered with only by vanadium(V) which forms a blue unstable complex. This interference can be eliminated by reducing with ascorbic acid. The mean error in determinations of 2.5 to 8.5 mg niobium in 50 ml solution is 0.1 mg. No increase in the error was observed in determinations conducted in the presence of three or four times as much tantalum, iron, and tin.

Literatur.

- ¹ R. Pribil, Komplexony v chemické analýse. Prag: Akademie-Verlag. 1953.
- ² W. Nielsch und H. Boeltz, Mikrochim. Acta [Wien] 1954, 481.
- ³ J. H. Yoe und A. R. Armstrong, Analyt. Chemistry 19, 100 (1947).
- ⁴ J. H. Yoe und A. L. Jones, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. 16, 111 (1944).

- ⁵ J. H. Yoe und F. Will, *Analyt. Chim. Acta* **6**, 450 (1952).
⁶ O. Tomicek und L. Jerman, *Chem. Listy* **46**, 144 (1952).
⁷ G. Schwarzenbach und A. Willi, *Helv. Chim. Acta* **34**, 528 (1951).
⁸ E. Hines und D. F. Boltz, *Analyt. Chemistry* **24**, 947 (1952).
⁹ H. Schaefer und C. H. Pietruck, *Z. anorg. Chem.* **264**, 2 (1951).
¹⁰ O. Klawora, Dissertation, Techn. Hochschule Graz. 1953.

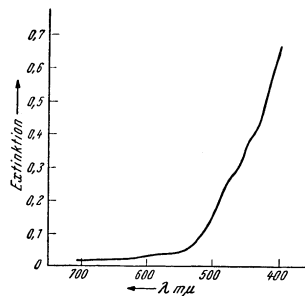


Abb. 1. Absorptionskurve des Niob(5)-Tironates.

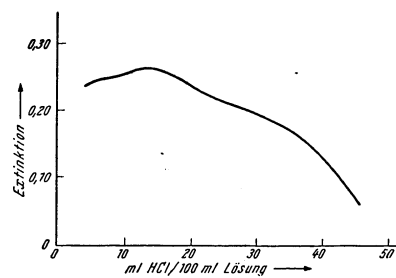


Abb. 2. Abhängigkeit der Absorption des Niobtironates von der Säurekonzentration.

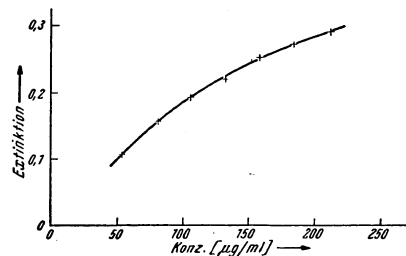


Abb. 3. Eichkurve zur Niobbestimmung Lauge-Kolorimeter, Blaufilter, 20-ml-KPG-Röhrchen.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/24.

Zeilenanzahl: 224.

Aus der Hygienisch-bakteriologischen Untersuchungsanstalt der Stadt Wien.

Nachweis von Erdölprodukten in natürlichen Wässern durch Fluoreszenz.

Von

Berther Nietsch.

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 1. April 1955.)

Eine Verunreinigung des Bodens in der Umgebung einer Fund- oder Verarbeitungsstätte von Mineralöl hat meistens sehr ungünstige Folgen für das Grund- oder Quellwasser, das zur Versorgung der betreffenden Gegend mit Trinkwasser dienen soll. Da in Trinkwässern schon sehr geringe Mengen von Erdölprodukten stören können, ist es für den Wasserfachmann wünschenswert, auch minimale Verunreinigungen durch solche Substanzen leicht und verlässlich nachweisen zu können. Ein solcher Nachweis erlaubt nicht nur die bestehende Verunreinigung des Wassers festzustellen, sondern auch die Ausdehnung oder das Fortschreiten der Boden- bzw. Grundwasserverunreinigung zu bestimmen (z. B. durch Untersuchung bestehender Brunnen oder eigens angelegter Probesonden). Über Fälle aus der Praxis wurde an anderer Stelle berichtet¹.

Bei den Versuchen, die schon bei flüchtiger Beobachtung im Tageslicht auffallende Fluoreszenz schwach bzw. hell gefärbter und durchscheinender Erdölprodukte mit Hilfe künstlicher Anregung auf alle derartigen Substanzen auszudehnen und damit zu deren qualitativer und annähernd quantitativer Bestimmung in natürlichen Wässern nutzbar zu machen, war die Absicht leitend, eine Methode zur Verfügung zu haben, die im Vergleich mit den gravimetrischen Methoden der „Deutschen Einheitsverfahren“ und der „Standard Methods“ der USA möglichst wenig Zeit und (abgesehen von der UV-Lampe) möglichst einfache Hilfsmittel beanspruchen und zudem noch den Nachweis geringster Substanzmengen zulassen sollte.

Als UV-Lichtquelle verwendete ich die Analysenquarzlampe der Wiener Firma „Astralux“, die überwiegend die Strahlung der stärksten Hg-Linie von 365 bis 366 m μ liefert. Eine Steigerung der Empfindlichkeit des Nachweises durch Verwendung einer Niederdrucklampe, die das Licht der Wellenlänge 2537 Å aussendet, ist nicht möglich. Es zeigte sich nur eine sehr schwache Fluoreszenz der betreffenden Proben, die zu einer praktischen Verwendung nicht ausreichte.

Dagegen ließ sich eine Verstärkung der Fluoreszenzintensität bei Verwendung von Hochdrucklampen (365 bis 366 m μ) bewirken, wenn eine Lampe mit kurzem, senkrecht stehendem Brenner benützt wurde; dessen Licht fiel durch ein entsprechend klein dimensioniertes Filter mit geeigneter Blende annähernd punktförmig auf einen zur Achse des einfallenden Lichtes schief gestellten Hohlspiegel. Das am besten in einem Winkel von ca. 30° reflektierte Lichtbündel passierte eine in zweckmäßiger Weise aufgestellte, die zu prüfende Flüssigkeit enthaltende zylindrische Küvette, die auf der Ein- und Austrittseite je ein Quarzfenster trug. Durch diese Maßnahme war gegenüber den unter der gebräuchlichen UV-Lampe beobachteten Proben ein deutlicher Effekt zu erzielen. Dieser Kunstgriff verlangt indes Vorrichtungen, die der eingangs erwähnten Absicht nicht entsprechen. In den Rahmen einer möglichst einfachen Ausrüstung gehört auch die Verwendung eines der gangbaren Lampenmodelle.

Es war nun festzustellen, auf welchem Wege der Gehalt eines natürlichen Wassers an Erdölprodukten fluoreszenz-kolorimetrisch am besten gemessen werden kann und wie groß die Empfindlichkeit dieses Nachweises ist.

Für meine Versuche standen mir fünf verschiedene Ölproben zur Verfügung, und zwar zwei Raffinate (Autoöl 12 bis 14/50° E, Transformatoröl hochraffiniert, österreichischer Herkunft) und drei Roh- bzw. Rückstandsöle (Sattdampf-Zylinderöl, Schlier-Rohöl, sog. „Öl aus dem Kiesgrubenbrunnen“, das aus einem durch Kriegseinwirkung stark mit Ölprodukten verunreinigten Brunnen auf dem Gelände einer Ölraffinerie in der Umgebung Wiens stammte).

Über die Beschaffenheit dieser Ölmuster sowie über die Herstellung der zu den Versuchen dienenden Stammemulsionen von Öl in Wasser im Verhältnisse 1 : 10⁴ und deren Haltbarkeit, ferner über die daraus bereiteten Verdünnungsreihen, die bis 1 : 10⁹ reichten, wurde an anderer Stelle berichtet^{1, 2}. Ebenso wurde die sehr einfache Versuchstechnik dort beschrieben.

Aus der Literatur über die Fluoreszenz natürlicher Wässer seien hier nur die Arbeiten von E. Merker³ und H. Iveković⁴ angeführt, in denen die Intensität der Fluoreszenz solcher Wässer als Funktion des Gehaltes an organischen Stoffen (erfaßbar durch die Bestimmung des Permanganatverbrauches nach Kubel und Tiemann) nachgewiesen wird. Darauf werden wir uns später nochmals beziehen.

Die Frage, welche Anteile der unterschiedlichen Mineralöle fluoreszieren bzw. welcher Klasse von Verbindungen sie angehören, ist ungeklärt, für den Wasserfachmann allerdings auch ohne praktische Bedeutung.

Jedenfalls bestehen hinsichtlich der Fluoreszenz der ursprünglichen Ölprobe bei den geprüften Sorten deutliche Unterschiede zwischen raffinierten und Rohölen. Während jene leuchtend blau fluoreszieren, zeigen diese einen gelben Grundton mit bräunlichem oder grünlichem Stich. Diesen ursprünglichen Ölproben analog verhielten sich bei der Beobachtung im UV-Lichte auch die Stammemulsionen, und zwar sowohl beim Auftropfen auf Tüfelpapier, wie auch im Becherglas. (NB. Gläser ohne Eigenfluoreszenz verwenden!)

Die Erscheinung, daß auf dem Tüfelpapier ein die Fluoreszenzfarbe der ursprünglichen Ölprobe zeigender Kern entsteht, während das Wasser voreilt, ließ Dangel und Nietsch⁵ eine basische Natur der Ölprobe annehmen (vgl. dazu ⁶). Nur qualitativ ausgewertete Untersuchungen mittels der Papier-Elektrophorese nach H. Michl⁷ zeigten jedoch, daß die Stammemulsionen keine Ladung besaßen bzw. unter den Bedingungen des Versuches höchstens schwach negativ geladen waren. Das Verhalten der Stammemulsionen auf Tüfelpapier ist daher jedenfalls auf *unspezifische Adsorption* und *nicht* auf irgendwelche elektrostatische Erscheinungen zurückzuführen. Diese Feststellungen gelten für bei der Papier-Elektrophorese herrschende Versuchsbedingungen, insbesondere für das dabei vorliegende pH. Somit trifft die Annahme eines basischen Charakters für die Stammemulsionen *nicht* zu.

Während man durch Auftropfen auf Tüfelpapier eine erkennbare Fluoreszenz nur bis 1 : 10⁵ erhält, ist es bei einiger Übung möglich, den Ölgehalt eines Wassers mit Hilfe der wäßrigen Verdünnungsreihen bis zu einer Menge von 1 : 10⁷ (0,1 mg/l) zu bestimmen. Bei der Vielfalt der Erdölderivate und der technischen Abfallprodukte wird es jedoch immer schwierig sein, in einer mit Mineralölprodukten verunreinigten Wasserprobe und dem für die Vergleichsreihe verwendeten Ölmuster die gleiche oder wenigstens eine sehr ähnliche Fluoreszenzfarbe zu erzielen. Daher wurde nach einem Wege gesucht, die Vergleichbarkeit von Probe und Test zu verbessern und zugleich, wenn möglich, auch die Empfindlichkeit des Nachweises noch zu erhöhen.

Die erste Möglichkeit dazu ergab die Bindung der Ölsuren an ein Adsorptionsmittel. Am geeignetsten erwies sich feinst verriebenes Magnesiumoxyd (DAB VI)^{1, 2}. Dieses ist daher für den praktischen Gebrauch allein zu empfehlen. Die Fluoreszenzfarbe aller geprüften Ölmuster entsprach bei Verwendung von Magnesiumoxyd, Kieselgur, Tierkohle oder Aluminiumhydroxyd als Adsorptionsmittel der Farbe, die sowohl

die ursprüngliche Ölprobe wie auch die Stammemulsion zeigten.

Bei der Feststellung der Erfassungsgrenze mit Magnesiumoxyd ergab sich, daß die Raffinate (Autoöl bzw. Trafoöl) noch bei der Verdünnung $1:10^9$ gegenüber einer gleich behandelten Blindprobe eine erkennbare Fluoreszenz zeigten. Bei den Roh- bzw. Rückstandsölen lag die Grenze um eine Zehnerpotenz niedriger. Dabei zeigte sich, daß beginnend bei der Verdünnung $1:10^8$ die Adsorbate aller Ölproben die charakteristischen Unterschiede ihrer Fluoreszenzfarben verloren und einheitlich gelblich-weiß fluoreszierten, so daß ein Vergleich untereinander leicht möglich war.

Ein hoher Gehalt an oxydierbaren organischen Stoffen (hoher Permanganatverbrauch nach *Kubel* und *Tiemann*) stört den Nachweis mittels Magnesiumoxyd nicht, wie Versuche mit Wasser, das vorher mit Torf geschüttelt wurde und 140 mg Permanganat/Liter verbrauchte, zeigten.

Nach Schütteln der Probe mit ca. 0,01 g Magnesiumoxyd/100 ml und Abfiltrieren wird das Filter (Blauband, Schleicher & Schüll) zur Beobachtung im UV-Licht auf einem Uhrglas ausgebreitet (analog eine Blindprobe). Das Filtrat wird auf praktische vollständige Entfernung der Ölsuren ebenfalls unter der UV-Lampe geprüft.

Noch vorteilhafter erwies sich die Ausschüttelung der ölhaltigen Wasserprobe mit Äther p. a. (gewöhnlicher Äther hat merkbare Eigenfluoreszenz) oder besser mit Petroläther (DAB VI, $d_{20} = 0,645$ bis $0,655$).

Es wurde bereits erwähnt, daß die Fluoreszenzfarbe der ursprünglichen Ölprobe beim Auftropfen wäßriger Emulsionen auf Tüfelpapier ebenfalls auftritt. Anders ist es nun, wenn kein kolloid-disperses System, sondern eine „echte Lösung“ vorliegt. Löst man die ursprünglichen Ölproben in Äther oder Petroläther, so haben solche Lösungen eine leuchtend blaue bis graublaue Fluoreszenz. Bei den Raffinaten war die Farbe besonders hell, während sie bei den anderen Ölsorten, die uns zur Verfügung standen, mit grau gemischt war, und zwar um so mehr, je stärker sie milchig getrübt waren. Der allen Ölproben gemeinsame blaue Grundton war aber für den Vergleich viel günstiger als die verschiedenen Fluoreszenzfarben der wäßrigen Emulsionen. Ferner ist die Beobachtung der homogenen Äther- bzw. Petrolätherlösungen exakter ausführbar als die der Filter mit dem Magnesiumoxyd.

Die Fluoreszenzintensität extrem kleiner Konzentrationen, und zwar von 10^{-7} an, kann sowohl beim Adsorptions- wie beim Extraktionsverfahren vom menschlichen Auge nicht mehr unterschieden werden.

Der Nachweis eines Ölgehaltes ist auch nach der Ausschüttelungsmethode bei den Raffinaten bis zu 10^{-9} möglich, bei den Roh- und Rückstandsölen liegt die Grenzkonzentration bei 10^{-7} , evtl. noch bei 10^{-8} . Hoher Permanganatverbrauch der Wasserprobe ist hier ebenso wenig hinderlich wie bei der Adsorptionsmethode.

Die Lichtabsorption der Petrolätherextrakte der Stammemulsionen aller Ölproben (mit Ausnahme des Sattedampf-Zylinderöles) ebenso wie des reinen Petroläthers wurde mit einem Spektrophotometer gemessen². Das Ergebnis ist aus der Abb. 1 zu entnehmen, in der auf der Abszisse die Wellenlängen in $m\mu$ in gewöhnlicher Teilung, auf der Ordinate die Prozente der Transparenz in logarithmischer Teilung aufgetragen sind.

Aus den Absorptionskurven läßt sich Folgendes ableiten:

1. Petroläther in der zu den Versuchen verwendeten Qualität (DAB VI, $d_{20} = 0,645$ bis $0,655$) absorbiert bei der stärksten Hg-Linie (365 bis $366 m\mu$) nicht mehr, während er bei der Resonanzlinie wegen totaler Absorption als Lösungsmittel praktisch unbrauchbar wäre, das heißt, bei dieser Wellenlänge kommt eine brauchbare Fluoreszenz nicht mehr zustande. Für die Untersuchungen mittels einer Hochdrucklampe von der Art der verwendeten „Astralux“-Lampe ist er als Extraktionsmittel somit sehr gut geeignet.

2. Die Petrolätherextrakte der Ölproben lassen unter den erwähnten Bedingungen bei der Wellenlänge 365 bis $366 m\mu$ 60 bis 70% des einstrahlenden Lichtes durch. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Öl-

sorten sind bei dieser Wellenlänge nicht sehr groß. Theoretisch wäre also eher eine Lichtquelle vorzuziehen, die überwiegend die Strahlung von 300 ... 320 $m\mu$ liefert. Unter den handelsüblichen Geräten ist eine solche aber m. W. zur Zeit nicht vorhanden.

3. Die den Ölproben eigene, verschiedene Fluoreszenzfarbe müßte eigentlich erkennbar sein, wenn das menschliche Auge imstande wäre, diese Unterschiede zu erfassen. So aber tritt, besonders bei höheren Verdünnungen, die weitgehend ähnliche Farbe bei allen geprüften Ölsorten auf, und zwar das oben erwähnte Blau in seinen Schattierungen von Weißlichblau bis Graublau. Möglicherweise spielt bei den höheren Verdünnungen doch auch ein Einfluß des Lösungsmittels auf die Farbe eine Rolle.

Die hier beschriebenen Methoden sind dazu bestimmt, Spuren von Erdölprodukten in natürlichen Wässern qualitativ und annähernd quantitativ zu erfassen. Bei den in Betracht kommenden Wasserarten handelt es sich vorwiegend um solche, die zur Trinkwasserversorgung in Betracht kommen. Jedoch ist der Nachweis so geringer Mengen von Erdölprodukten auch für Kesselspeisewässer und Kondensate von Bedeutung.

In Abwässern sind Ölgehalte, die in einem natürlichen (d. h. Boden- oder Oberflächen-) Wasser bereits stören, noch tragbar, ohne die Wirkung einer biologischen Klärung im wesentlichen zu beeinträchtigen. Zur Bestimmung der in diesen Fällen in Frage kommenden Ölgehalte ist die gravimetrische Methode der „Einheitsverfahren“ sehr gut geeignet. Der fluoreszenzanalytische Nachweis wird, wie oben gesagt wurde, zwar durch die hohe Oxydierbarkeit eines Abwassers nicht gestört. Jedoch können, wie orientierende Versuche gezeigt haben, andere in Abwässern vorkommende Stoffe den Nachweis in der hier beschriebenen Weise behindern. Er bietet daher, wenigstens vorläufig, gegenüber der Methode der „Einheitsverfahren“ bei der Untersuchung von Abwässern keinen Vorteil.

In natürlichen Wässern lassen sich Verunreinigungen durch Erdölprodukte bis zu einer Menge von 1 $\mu g/l$ mittels einer handelsüblichen Analysenquarzlampe nachweisen. Wie vorläufige Versuche wahrscheinlich machten, könnte die Empfindlichkeit des Nachweises noch gesteigert werden; doch wäre dies nur von theoretischer, nicht aber von praktischer Bedeutung.

Den Herren Dr. *Hans Adler* (II. Physikalisches Institut der Universität Wien) und Dr. *H. Michl* (II. Chemisches Laboratorium der Universität Wien) danke ich herzlichst für ihre Gastfreundschaft und Unterstützung bei den physikalischen Messungen.

Zusammenfassung.

Verunreinigungen des natürlichen Wassers durch Erdölprodukte lassen sich nach Adsorption an Magnesiumoxyd oder nach Extraktion mit Äther oder Petroläther durch ihre Fluoreszenz im UV-Licht einer üblichen Analysenquarzlampe bis zu einer Menge von 1 $\mu g/l$ nachweisen.

Summary.

Contamination of natural waters through petroleum products can be detected by means of their fluorescence in the ultraviolet light of an ordinary quartz lamp in amounts as small as 1 $\mu g/liter$. The impurities are adsorbed on magnesium oxide or extracted with ether or petroleum ether.

Literatur.

- ¹ B. Nietsch, Jahrb. „Vom Wasser“ 21, 186 (1954).
- ² B. Nietsch, Zbl. ges. Forst- u. Holzwirtschaft, im Druck.
- ³ E. Merker, Zool. Jahrb. (Physiologie) 49, 69 (1931).
- ⁴ H. Ieković, Z. Hygiene 112, 54 (1931); Chem. Zbl. 1931, I, 2653.
- ⁵ F. Dangel und B. Nietsch, Mikrochem. 39, 333 (1952).
- ⁶ W. Ostwald, Die Welt der vernachlässigten Dimensionen. Leipzig: Steinkopff. 1944. S. 64ff.
- ⁷ H. Michl, Mh. Chem. 82, 23, 489, 944 (1951); 83, 210, 737 (1952).

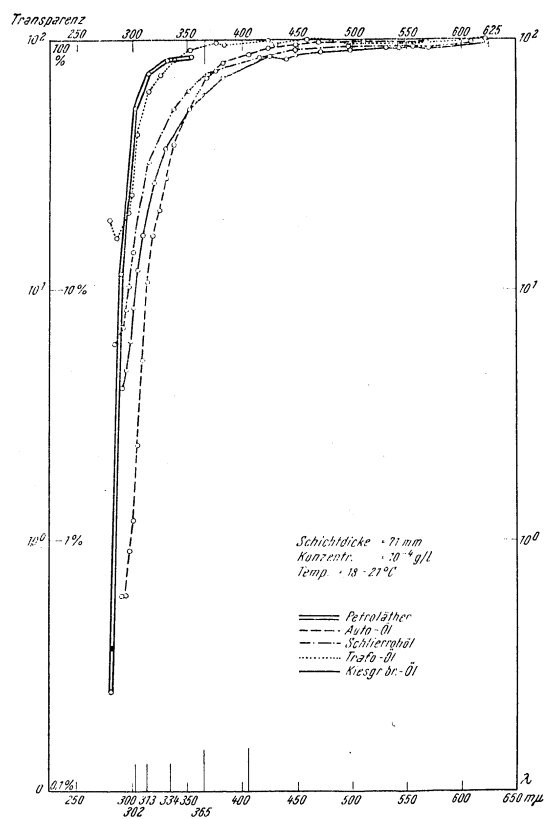


Abb. 1. Lichtabsorption der aus den Stammemulsionen der Ölproben gewonnenen Petrolätherextrakte.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/25.

Zeilenanzahl: 132.

Aus dem Analytischen Laboratorium der Rheinisch-Westfälischen Technischen
Hochschule Aachen.

Neue Verbesserungen der qualitativen Schnellanalyse.

Von

Alwin Schleicher.

(Eingelangt am 1. April 1955.)

Seitdem G. Charlot und D. Bézier 1943 ihre „Méthode nouvelle d'analyse des cations“¹ veröffentlichten und sie zur „Analyse qualitative rapide des cations“² erweitert haben, ist diese Methode von den erwähnten Autoren und von R. Gaupin³ bereits mehrfach verbessert worden. Ich selbst habe sie auf Anregung eines meiner Schüler J. M. Odekerken³ 1954 dadurch erweitert, daß ich auch eine Reihe von Anionen einbezogen und damit eine qualitative Schnellanalyse vorgeschlagen habe⁴. Die Aufnahme meines Büchleins war so gut, daß ich schon jetzt vor der Aufgabe stehe, eine 2. Auflage davon erscheinen zu lassen.

In der Zwischenzeit ist aber auch von Charlot und seinen Mitarbeitern eine wesentliche Verbesserung der „Analyse qualitative rapide des cations“² erschienen⁵, und über diese möchte ich Ihnen hier berichten.

Der Grundgedanke Charlots ist, an die Stelle des bekannten systematischen Trennungsganges für den Einzelnachweis der Kationen nur empfindliche und spezifische Reaktionen zu verwenden. Sind beide Eigenschaften in genügendem Maße vorhanden, so ist es möglich, die einzelnen Nachweise nicht nur an kleinsten Problemengängen durchzuführen, sondern auch in Gegenwart anderer Kationen und Anionen. Die Durchführung einer qualitativen Analyse gestaltet sich nicht nur mikroanalytisch, sondern ist auch sehr schnell durchführbar.

Es ist wohl überflüssig, hier darauf zu verweisen, daß dies nur dank der Bemühungen von gut einer ganzen Generation von Mikroanalytikern möglich geworden ist. Daher kann ich es mir ersparen, einzelne Autoren hier anzuführen, und gehe auf die Durchführung des Weges, so wie er heute vorliegt, ein. Er erstreckt sich auf 35 Metalle und 23 Säurereste. Man bereitet sich zunächst eine Lösung der Probe, indem man etwa 10^{-2} g davon in Lösung bringt, so daß die Konzentration der nachzuweisenden Ionen zwischen 10^{-2} und 10^{-4} , auch 10^{-5} g je ml liegt. Diese Grenzen sind durch die Grenzwerte der Empfindlichkeit, aber auch der Spezifität gegeben. Die Nachweismöglichkeit erstreckt sich somit auf Gehalte von 100 bis 1 und 0,1%. Damit ist die Spurensuche von vornherein ausgeschlossen. Jedenfalls wird eine schnelle Orientierung über die ungefähre Zusammensetzung einer Probe erreicht. Damit liegen aber auch die Vorteile der neuen Methode greifbar auf der Hand. Sie sind:

1. Die notwendige Flüssigkeitsmenge ist sehr gering, fast alle Nachweise vollziehen sich an einem Tropfen der Lösung;
2. der Reagensverbrauch ist ebenso gering;
3. die Zahl der Fällungen ist gleichfalls klein; nur selten muß ein Niederschlag ausgewaschen werden;
4. die Verwendung von Schwefelwasserstoff ist gänzlich ausgeschaltet;
5. die verwendeten Nachweisreaktionen sind unabhängig voneinander, so daß man im Zweifelsfalle, ausgehend von der ursprünglichen Lösung, jede Reaktion wiederholen kann;
6. die Methode ist nicht so zwangsläufig wie der systematische Analysengang und damit durchaus entwicklungsfähig. Jeder Analytiker, soweit er die dazu notwendigen Kenntnisse besitzt, kann also ein neues Reagens einführen.

Die Durchführung kann bei genügender Übung in zwei, ja sogar in einer Stunde erfolgen und sie kann für die besonderen Fälle eines Laboratoriums auch Hilfskräften überlassen werden. Man wird aber auch leicht einsehen, daß der neue Weg nicht vom Anfänger des Chemiestudiums, sondern erst vom fortgeschrittenen, vor allen Dingen aber von den Praktikern in der chemischen Industrie sowie in privaten und öffentlichen Laboratorien mit Erfolg eingeschlagen werden kann.

Es ist selbstverständlich hier nicht möglich, auf die Einzelheiten der Durchführung bei den verschiedenen Kationen und Anionen einzugehen, das heißt, die Namen der vorgeschlagenen, vielfach organischen Reagenzien zu nennen oder anzugeben, wann das Spitzröhrchen, die Tüpfelplatte, das Zünglein eines Streifens gehärteten Filtrierpapiere, die Zentrifuge oder eine UV-Lichtquelle angewendet werden. Auch sollen hier nicht irgendwelche maximalen oder minimalen Werte der erreichbaren Grenzkonzentration aufgeführt werden, wohl aber soll hier der Kritik und damit dem weiteren Fortschritt der Methode jegliche Tür geöffnet werden. Daß es absolut spezifische Reagenzien nicht gibt, ist jedem Einsichtigen klar, ebenso daß die Möglichkeit besteht, unspezifische Reaktionen spezifisch zu gestalten. Hier bleibt also der Findigkeit der Forscher und der Geschicklichkeit des Analytikers noch ein weites Feld der Betätigung.

Dazu hier ein aktuelles Beispiel: Für die Prüfung auf die Erdalkali- und Alkalimetalle mußte in der 1. Auflage die vorherige Abtrennung der Metalle der Schwefelammoniumgruppe beibehalten werden, um die Störungen durch sie zu umgehen. Gerade diese Abtrennung aber bedingt die größten Schwächen des systematischen Analysenganges. Bei dieser Trennung findet eine Adsorption und Fällung der Erdalkalimetalle als Karbonate und Sulfate infolge der Einwirkung der Luft-Kohlensäure und der Oxydation des Sulfidions durch Luft-Sauerstoff statt. Sind darüber hinaus Phosphate enthalten, so bringen sie weitere Verluste und Komplikationen mit sich. Die bisher angegebenen Empfindlichkeiten sind also illusorisch. Diese Schwierigkeiten konnte *Charlot* durch die Einführung der sog. „Komplexone“ überwinden. Man kann also nunmehr die Erdalkalien einschließlich des Magnesiums sowie Kalium und Natrium unmittelbar aus der ursprünglichen Lösung feststellen. Gleichzeitig wurde damit der Kupfernachweis neben viel Kobalt, der Wismutnachweis und der des Quecksilbers verbessert. Ist hierbei die Kupfermenge zu groß oder die Acidität zu hoch, so kann man die Lösung vor dem Versuch sogar noch verdünnen.

Eine grundsätzliche Schwäche des ganzen Verfahrens ist jedoch bisher noch von keinem Kritiker gerügt worden. Bei der stellenweise begeisterten Aufnahme des neuen Weges ist übersehen worden, daß die Zwangsläufigkeit des systematischen Analysenganges grundsätzlich alle Kationen zu erfassen gestattet. In der Durchführung des neuen Weges kann es aber gelegentlich auch einmal vorkommen, daß die Prüfung auf eines der Metalle lediglich vergessen oder übersehen wird. Wenn auch der alte Weg nicht alle Metalle zu erfassen vermag, so ist doch auch der neue noch weit davon entfernt, dies zu tun.

Das aber zwingt den Analytiker zu einer ehrlicheren Aussage über den Erfolg seiner Arbeit. Es geht nunmehr nicht mehr an, lediglich über die gefundenen Metalle und Säurereste zu berichten, sondern man muß die einzelnen Komponenten aufzählen, auf die man geprüft hat, und weiterhin auch die Konzentrationswerte angeben, bis zu welchen man die Prüfung hat durchführen können.

Zusammenfassung.

Es wird kurz über die qualitative anorganische Schnellanalyse berichtet, die unter Vermeidung eines systematischen Analysenganges mit Hilfe empfindlicher und spezifischer Reaktionen eine schnelle Orientierung über die ungefähre Zusammensetzung einer Probe unter Anwendung kleiner Substanzmengen ermöglicht.

Summary.

A brief report is given of the rapid qualitative inorganic analysis which, avoiding a systematic analytical scheme, utilizes sensitive and specific reac-

tions and thus yields a rapid orientation concerning the approximate composition of a sample. Only small amounts are needed.

Literatur.

¹ *G. Charlot und D. Bézier, Méthode nouvelle d'analyse des cations. Paris: Dunod. 1943.*

² *G. Charlot, D. Bézier und R. Gauguin, Analyse qualitative rapide des cations. Paris: Dunod. 1950.*

³ *J. M. Odekerken, Z. analyt. Chem. 131, 165 (1950).*

⁴ *A. Schleicher, Qualitative Schnellanalyse. Berlin: W. de Gruyter. 1954.*

⁵ *G. Charlot, D. Bézier und R. Gauguin, Analyse qualitative rapide des cations. 2. Aufl. Paris: Dunod. 1950.*

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/26.

Zeilenanzahl: 862.

Brooklyn College, Brooklyn 10, N. Y.

Recent Advances in the Application of Micromethods to the Identification of Organic Compounds.

By

Nicholas D. Cheronis.

With 7 figures.

(Received March 1, 1955.)

Part I. — The Microdetection of Fatty Acids.

The present discussion will be restricted to a summary of the work that has been done during the past few years in the author's laboratory in the application of micromethods to the identification of organic compounds. Some of this work has been published^{1,2} but the main parts of this presentation on the characterization of aliphatic carboxylic acids and the use of tetrazolium salts as microchemical reagents have only recently been completed.

Proof of Identity.

The determination of the identity of an unknown organic compound involves proof that the unknown bears complete similarity to one of the large number of organic compounds described in the literature. Thus the proof that *A* is identical to *B* from an operational point of view means that when *A* and *B* have been purified by several fractionations they exhibit substantially identical physical and chemical properties.

Some proofs of identity are more rigorous than others, depending upon the number and kind of properties that have been determined and compared. For example, in routine work the proof that *A* and *B* are identical is made frequently after one or two tests that are based on the formation of a colored complex or a precipitate, or generally on the similarity of behavior of *A* and *B* towards a reagent *C*. Such practice is admissible in routine work with certain reservations. For example, if an acidic solid is isolated from a natural product and is identified on the basis of color tests as *dl*-tartaric acid and it melts at 204° to 206° with some decomposition, such identification is tentative. For a definite proof according to the author's point of view it would be necessary to show that the melting point does not change on further fractionation or when admixed with known pure *dl*-tartaric acid. The same proof may be effected by preparing a derivative such as the *p*-nitrobenzyl ester or the amide of the compound and determining their melting points. In general, proof of identity on the basis of one physical constant and one color reaction (particularly of liquid compounds), though admissible in a number of instances, is not regarded as conclusive. The reason for this is that few color reactions are specific for a particular organic compound.

For absolute proof of the identity of any organic compound the author believes that besides the usual color classification reactions, data on at least two constants should be available, one of which preferably should be the melting point or some other constant of a derivative of the compound under investigation. The reasons for this thesis will be clarified by the discussion in the following sections.

Systematic Determination of Identity.

The systematic determination of identity involves the following three steps:

1. Is the unknown a pure compound or a mixture? It is seldom that

one meets with an unknown which is a relatively pure compound, unless it is handed in a test tube, vial or bottle as an "unknown" to the student. The first step, therefore, involves the determination of the number of components in the unknown and the isolation and purification of the various components before any of the other steps are taken.

2. Once one or more relatively pure compounds have been isolated, it is possible by following one of the standard schemes of qualitative analysis to assign the unknown first to a large group of compounds on the basis of solubility, elements present, and reaction to indicators. Then stepwise tests restrict the classification to fewer and fewer possibilities, until by correlation of all the data available a provisional assumption can be made that the compound on hand bears similarity to a compound listed in the literature.

3. Finally the provisional assumption is confirmed or discarded by reactions of the unknown with definite reagents whereby so-called derivatives are obtained, which are then compared with the melting points of the same derivatives described in the literature for the compound provisionally assumed to be identical with the unknown.

Modification of the Systematic Approach.

The systematic approach is usually modified in the hands of the experienced worker, particularly when the quantities of the isolated unknown are in the milligram range, or when it is extremely difficult to isolate a pure substance. The experienced worker can often identify a substance without going through the systematic steps outlined above. For example the melting phenomena observed through the microscope on a hot stage³ frequently give hints regarding the probable nature of the material, particularly when its origin and use are known. In such cases it is possible to modify the systematic procedure by elimination of some of the steps such as the analysis for elements and the solubility tests. Often the practice in such cases is to perform one or two color tests and eliminate the derivatization step. In the author's opinion this is admissible in routine work when the origin and use of the substance sought is known. However, since most of the color or precipitation tests are not specific it appears that for a rigorous proof at least one or two constants are required.

The use of micromethods in the identification of organic compounds is indicated not only when the quantity of material under investigation is limited to a few milligrams, but also when the amount of material is large, for obvious reasons. When the quantity is large it is relatively simple to separate a mixture into pure components and then determine the constants and identity of each. However, with microquantities there is a natural tendency to avoid isolating pure substances. In such cases the melting or boiling points are wide ranges of temperature which can hardly be called physical constants. This is particularly true when an attempt is made to identify organic substances in microgram quantities.

The Identification of Microquantities of Organic Substances.

When the amount of material under investigation is a few milligrams it is possible to adapt the classical steps of the systematic determination of identity to small quantities. The work of *Schneider*⁴, *Cheronis* and *Entrikin*⁵ and *Cheronis*², outlines procedures by which all the identification steps can be carried out with milligram quantities. Furthermore, the work of *Feigl* and his collaborators⁶ on "spot tests" constitutes a worthy contribution which may be employed to great advantage as an integral part of a scheme of identification, particularly when dealing with microquantities.

The advance of chromatographic procedures within the past years has provided an excellent tool for the detection and separation in a mixture of microgram quantities of substances that are extremely difficult or impossible to identify in such concentrations by other simple procedures.

The advances in the microidentification of organic compounds described in the present paper deal with the microderivatization of fatty acids and the detection of a number of reducing functions of organic

compounds in microgram quantities. However, it should be pointed out that the determination of R_f values may serve as constants in micro identification work. For example, let it be assumed that one deals with 5 ml of an aqueous solution containing a mixture of 100 mg of two alcohols and a carboxylic acid. The separation of the mixture into pure components and the determination of their physical constants would be extremely difficult even for the most experienced mikrochemist. However, it is possible to make a tentative identification of the three components by functional group tests and then to convert a part of the mixture into the 3,5-dinitrobenzoates of the alcohols and another into the 2,4-dinitrophenylhydrazides as described in this paper. Small droplets of the solutions containing 2 to 5 micrograms of the derivatives are chromatographed alongside the same derivatives from the pure compounds tentatively assumed to be identical with the unknowns. If the spots of the developed chromatograms have travelled the same distance and are similar in other respects, the identification may be considered as rigorous as if the components of the mixture had been fractionated and the boiling or melting point of each had been determined.

Microderivatization of Fatty Acids.

The primary objective of the investigation on fatty acids⁷ was the study of their known derivatives and the development of new ones that could be prepared with microquantities and produced and identified on a paper chromatogram.

Table 1 represents the total number of derivatives described in the literature for the derivatization of carboxylic acids:

Table 1. Derivatives Described in the Literature for the Derivatization of Carboxylic Acids.

	General Nature of Derivatives	Number of different derivatives within each group
I.	Amides and Substituted Amides (Amides, Anilides, Toluidides, Xenylamides etc.)	36
II.	Hydrazides and Ureides (Hydrazides, Phenylhydrazides, Monothiuroids, etc.)	13
III.	Esters (<i>p</i> -Nitrobenzyl, <i>p</i> -Bromophenacyl, etc.) ...	9
IV.	Salts and Miscellaneous Derivatives (Benzylammonium, S-Benzylthiuronium, Hydroxamates, etc.)	18
	Total number of derivatives	76

The principal requirements for suitable derivatives were first that they could be prepared in quantities of one milligram or less, and second that their presence on a chromatogram could be readily detected. The reason for the second requirement is shown in Table 2. Inspection of the table will disclose that the indicators which are employed to locate the spots are pH indicators, ammoniacal silver nitrate, and ferric chloride, all of which have definite defects.

Generally polynitrophenyl derivatives of amino acids²⁴, alcohols²⁵ and carbonyl compounds²⁶ are detectable in microgram quantities by paper chromatographic procedures. Therefore the *p*-nitrobenzyl and the 2,4-dinitrobenzyl esters and the 2,4-dinitrophenylhydrazides were selected for investigation.

The *p*-nitrobenzyl esters of the fatty acids C_1 to C_4 and C_{16} melt at 31°, 78°, 31°, 35° and 43° respectively, while the derivatives of C_8 to C_{10} are oils. Therefore they were rejected as unsuitable. The 2,4-dinitrobenzyl esters were investigated. Only the acetate was reported in the literature²⁷; attempts to prepare the derivatives of the acids C_3 to C_7 gave a solid melting at 66° to 67° for the propionic and oils for the others. Therefore the 2,4-dinitrobenzyl esters were abandoned.

Table 2. Characterization and Separation of Fatty Acids by Paper Chromatography.

Type of Fatty Acids	Derivative Chromatographed	Solvent System	Indicator for Location of Spots	Literature Reference
Lower	Free acids or Na, NH ₄ etc., salt	1-BuOH-NH ₃ -H ₂ O	Bromocresol Green	8, 9, 10
Lower	Free acids or Na, NH ₄ etc., salt	1-BuOH-NH ₃ -H ₂ O	Bromophenol Blue	11, 12
Lower	Free acids or Na, NH ₄ etc., salt	1-BuOH-EtNH ₂ -H ₂ O	Ag(NH ₃) ₂ ⁺ (H ₂ O) _n	13, 14
Lower and Higher	Free acids or Na, NH ₄ etc., salt	1-BuOH-(Et) ₂ NH-H ₂ O EtOH-NH ₃ -H ₂ O	Bromophenol Blue Chlorophenol Red Bromocresol Purple and CH ₂ O	15, 16, 17
Lower	Hydroxamates	1-BuOH-AcOH-H ₂ O C ₆ H ₆ -AcOH-H ₂ O	FeCl ₃	18, 19, 20, 21
Lower and Higher	Hydroxamates	1-BuOH-H ₂ O Et-Acetate-H ₂ O	FeCl ₃	22
Lower and Mixtures ...	Hydrazides	i-AmOH-Colli-dine-H ₂ O	Ag(NH ₃) ₂ ⁺ BuOH	23

The 2,4-dinitrophenylhydrazides of the fatty acid reported in the literature are shown in Table 3.

Table 3. Dinitrophenylhydrazides of Fatty Acids Reported in the Literature.

Fatty Acid	Melting Point °C	Literature Reference
C ₁	183-184	28
C ₂	197-198	28
	197-198	29
C ₁₂	110-111	30
C ₁₄	118	30
C ₁₆	120-121	30
C ₁₈	123	30

The methods for the preparations of these derivatives were investigated, a satisfactory method was developed and the pure derivative of the acids C₂, C₃, C₄, C₅, C₆, C₇, C₈, C₉, C₁₀, C₁₂, C₁₄, C₁₆ and C₁₈ were prepared, analyzed, and their melting points determined. These are tabulated in Table 4. Of these, eight (asterisked) were not previously reported in the literature and for those reported no analytical data were given.

Table 4. 2,4-Dinitrophenylhydrazides of Fatty Acids.

Acid	Carbon Atoms	2,4-Dinitrophenylhydrazides			
		Melting Point	Difference °C**	Calculated N %	Found N %
Acetic	C ₂	198-199 (197-198)		23.3	23.3
*Propionic	C ₃	189-190	9	22.0	22.1
*Butyric	C ₄	165	24	20.9	21.1
*Valeric	C ₅	131-132	34	19.9	20.1
*Caproic	C ₆	117-118	14	18.9	18.3
*Heptanoic	C ₇	108-109	10	18.1	17.8
(Oenanthic)					
*Caprylic	C ₈	107-108	1	17.3	16.7
*Nonanoic	C ₉	108-109	1	16.6	16.3
(Pelargonic)					
*Capric	C ₁₀	115-116	8	15.9	16.2
Lauric	C ₁₂	117-118 (110-111)	2	14.7	14.9
Myristic	C ₁₄	119-120 (118)	2	13.7	13.3
Palmitic	C ₁₆	118-119 (120-121)	1	12.8	12.5
Stearic	C ₁₈	120-121 (123)	2	12.1	12.1

* Derivatives not previously reported.

** Difference in melting temperatures between adjacent members of the series.

Inspection of the column which shows the differences in the melting temperatures of adjacent members of the series (Table 3) shows that there is sufficient spread for the first seven members, but negligible between C₈ and C₉, and small differences between C₁₂ and C₁₈.

Chromatographic Characterization.

Holman³¹ has reviewed the chromatographic analysis of fatty acids and related substances by elution analysis, frontal analysis, displacement analysis, partition chromatography and paper chromatography. *Asselineau*³², *Govindarajan*³³, *Jacobsberg*³⁴, and *Kaufmann*³⁵ have reviewed the application of paper chromatographic methods to the analysis of carboxylic acids.

In order to determine the best solvent system a variety were investigated as shown in Table 5. The pure 2,4-dinitrophenylhydrazides were used on separate strips and then the strips used to prepare a composite chromatogram. For the characterization of microgram quantities of a relatively pure fatty acid or a fatty acid admixed with a small amount of impurity the solvent system is not too critical. The acid is converted to the 2,4-dinitrophenylhydrazone, then 1 to 3 µg can be placed on a strip and developed *alongside* of the same derivative from a pure fatty acid which is provisionally assumed to be identical with the unknown. Comparison of the *R_f* values of the two spots affords the same comparison as that of the values of their melting points. Similarly a composite spot made with 1 µg of each derivative when properly developed serves as a mixed melting point.

Table 5. Solvent Systems Investigated for Development of Paper Chromatograms of 2,4-Dinitrophenylhydrazides of Fatty Acids.

1. Acetone-HCl-H ₂ O.	9. Collidine- <i>t</i> -Amyl alcohol-H ₂ O.
2. Acetone-HCl-NH ₃ .	10. Methanol water.
3. 1-Butanol-H ₂ O-NH ₃ .	11. Phenol-isoamyl alcohol-H ₂ O.
4. 1-Butanol-acetic-H ₂ O.	12. Pyridine-isoamyl alcohol-H ₂ O.
5. Benzene-acetic-H ₂ O.	13. <i>t</i> -Butyl alcohol-buffer-pH 11.0.
6. CCl ₄ -acetic-H ₂ O.	14. Methyl ethyl ketone-H ₂ O-NH ₃ .
7. CHCl ₃ -isopropyl alcohol-potassium benzoate-water.	15. Methyl ethyl ketone-H ₂ O-HCl.
8. Collidine-water.	16. Buffered solutions at various pH.

However the separation of the 2,4-dinitrophenylhydrazides of all the fatty acids by chromatographic procedures is not an easy matter. Inspection of the fatty acids listed in Table 4 indicates that adjacent members of the homologous series and differ only by a CH_2 group and that many have relatively high molecular weights; hence difficulty in their separation should be anticipated.

It was generally found that solvent systems containing a high proportion of organic solvent, whether acid, neutral or basic (which are commonly used in chromatographic procedures) gave little or no separation. As the aqueous component of the solvent system was increased the derivative of the lower molecular weight acids moved more rapidly than those of the higher acids, and "tailing" increased. Fig. 1 shows a composite of paper strip chromatograms of the 2,4-dinitrophenylhydrazides of the fatty acids using 0.05 M potassium benzoate saturated with methyl ethyl ketone. By using various buffers from pH 8.6 to pH 12.0 saturated with methyl ethyl ketone it was found possible to study the effect of pH on the various R_f values of the 2,4-dinitrophenylhydrazides. Fig. 2 shows a chromatogram of the derivatives at pH 8.6, Fig. 3 at pH 11.0, Fig. 4 at pH 11.6, and Fig. 5 at pH 12.0*.

* Figures 1 to 6 inclusive do not represent optimum separations which can be achieved since the objective was to study the effect of pH with larger quantities of material (50 micrograms) than are employed in separations (Figure 7, 1—3 micrograms).

It was found that the optimum amount of the sample to be placed on the strip is about 1 to 3 μg and the optimum pH between 11.2 and 11.6. Fig. 6 illustrates a sharp separation of the 2,4-dinitrophenylhydrazides of the C_2 to C_9 fatty acids from those of C_{12} to C_{18} homologs, using a buffer of pH 11.6. Fig. 7 represents the identification of a three-component mixture.

Operational Procedures for the Preparation and Chromatography of the 2,4-Dinitrophenylhydrazides of Fatty Acids.

A mixture of 0.30 mg of capric acid and 0.30 mg of palmitic acid is neutralized with 0.16 mg of sodium carbonate in 0.5 ml water in a 6-inch test tube. The mixture is evaporated on a steam bath and dried in an oven at 130° for 30 minutes. The tube is cooled, charged with 0.5 ml thionyl chloride, provided with a microcondenser and heated for 15 minutes at 55° . The condenser is removed and suction is applied to the contents to remove the thionyl chloride. A solution of 1.21 mg 2,4-dinitrophenylhydrazine in 3.5 ml of benzene is added into the tube, the microcondenser replaced and the mixture refluxed for 20 minutes, then cooled and extracted twice with 0.5 ml portions of concentrated hydrochloric acid, 10 per cent hydrochloric acid and water. The final volume of benzene is about 2.5 to 3.0 ml.

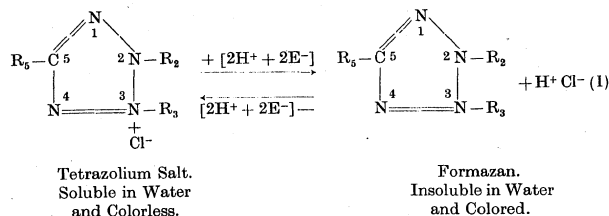
The test tube ascending technique^{38, 37} is employed using strips 0.5 inches wide and 18 cm length of Whatman filter paper No. 1 and pencil marks are made at points 1 cm and 14 cm from one end of the strip. A sample of the solution 5 to 10 μl (or sufficient volume containing 3 to 4 μg of the derivative) is applied at the 1-cm mark in the usual manner and the strip is placed in a tube (22 x 175 mm) containing 0.7 ml of buffer pH 11.2 saturated with methyl ethyl ketone. The tube is stoppered and allowed to stand in a vertical position until the solvent reaches the 14-cm pencil mark, when the strip is removed and dried in an oven at 100° . The spots of 2,4-dinitrophenylhydrazides are detected with the unaided eye, but more readily with reflected or transmitted ultraviolet light. When the paper is sprayed with 1 N sodium hydroxide the spots become brown. The spots of capric and palmitic acid 2,4-dinitrophenylhydrazides are completely separated and correspond to control spots.

Part II. — The Use of Tetrazolium Salts for Microdetection of Reducing Functions in Organic Compounds*.

* This part of the work is by N. D. Cheronis and H. Stein.

Tetrazolium salts first prepared by Pechman and Runge³⁸ and extensively investigated by Kuhn and Jerchel³⁹ were proposed by Lakon⁴⁰ for testing the viability of seeds. The usefulness of these reagents was pointed out by Dutcher⁴¹ who had interrogated Lakon in 1945 as a member of the American Intelligence Branch in Germany. Subsequently, Porter, Durrell and Romm⁴², Mattson, Jensen and Dutcher⁴³, Waugh⁴⁴ and Cottrell^{45, 46} confirmed the observations of Lakon and indicated that tetra-

zotium salts might be useful as reagents to detect differences in the viability of seeds and other tissues. This outstanding property is due to the fact that tetrazotium salt solutions on reduction by hydrogenases or generally by reductants yield colored formazan as shown in equation (1):



The application of tetrazotium salts to the study of carcinomatous tissues was made by *Straus*, *Cheronis* and *Straus*⁴⁶, who showed that neoplastic tissue reduces these salts in vivo or vitro at a greater rate. As a result of this a prodigious amount of work on the properties of these reagents has been accumulating in the literature.

Use of Tetrazotium Salts as Redox Indicators.

The work of this laboratory has been directed first towards preparing a series of tetrazotium salts which in redox reactions yield colors in the green, blue and violet regions of the spectrum. Secondly, the study of their properties has been undertaken, and, thirdly, through such studies the most sensitive of these compounds have been selected to be used as microchemical redox indicators. It should be pointed out that in equation (1) the arrows do not indicate a reversible reaction since in aqueous systems the reaction is irreversible.

The utilization of tetrazotium salts to detect sugars was pointed out by *Mattson* et al.⁴³ who stated that sugars reduced solutions of tetrazotium salts above pH 11.0. Later *Mattson* and *Jensen*⁴⁷ published a quantitative colorimetric estimation of reducing sugars. The calculated pH of the solutions employed is about pH 13.4. However, the author states that alkalinity is one of the less critical factors.

Other investigators such as *Weiner*⁴⁸, *Wallenfels*⁴⁹ and *Trevelyan*⁵⁰ have published tests for detection of reducing sugars both in solution and by paper chromatography by means of triphenyl tetrazotium chloride but no information is given as to the optimum pH or the limits of identification.

Stability of Tetrazotium Salt Solution at High pH.

Whether tetrazotium salts can be used as reagents at alkaline pH's depends on their stability. It was shown in this laboratory⁵¹ that, at alkaline pH tetrazotium salts without addition of a reductant develop colors similar to those which appear when they are acted upon by the reductant. This is shown in Table 1.

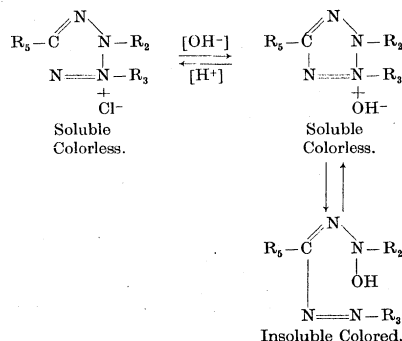
Table 1. Color Production by Basic Solutions of Triphenyl Tetrazotium Chloride.

Conc. M TTC*	pH	Color Formation on Boiling
0.15	10.2	Color
0.06	11.85	Color
0.03	12.20	Color
0.003	12.40	None
0.03	NaOH 6 N	cold (red precipitate)

* Molar concentration of triphenyl tetrazotium chloride.

The results indicate that the stability of the salts is a function not only of the pH but also of the concentration of the quaternary base of the salt. It can be shown that as the concentration of the hydroxyl ion

increases, the following reaction takes place until finally the quaternary tetrazolium hydroxide at high concentration rearranges to an insoluble colored isomer:



On the basis of this work it was possible to determine the threshold of stability of alkaline triphenyl tetrazolium chloride solutions on boiling. The results are summarized in Table 2.

Table 2. Determination of the Threshold Stability of Aqueous Solutions of Triphenyl Tetrazolium Chloride at Alkaline pH's.

Tetrazolium Salt Solution		Volume of Reagents				Color Formation on Boiling
		0.3N NaOH ml	Total			
ml	M 10 ⁻³		H ₂ O ml	Volume ml	pH	
0.1	7.5	0.3	0	0.4	12.6	Color
0.1	5.0	0.3	0.2	0.6	12.53	Faint
0.1	3.75	0.3	0.4	0.8	12.50	None
0.1	3.33	0.3	0.5	0.9	12.48	None
0.1	3.0	0.3	0.6	1.0	12.40	None
0.15	4.5	0.3	0.55	1.0	12.30	None
0.20	6.0	0.3	0.50	1.0	12.28	Faint
0.1	3.75	0.3	0.4	0.8	12.50	Color
0.1	3.0	0.3	0.5	0.9	12.45	None

The data indicate that a solution of triphenyl tetrazolium chloride containing 1 mg/ml is stable on boiling at pH 12.45. This is the threshold of its stability and thus can serve as a sensitive reagent.

The test as it has been developed^{51, 52, 53} for the detection of reducing functions of organic compounds is as follows:

To 0.1 ml of 1% solution of the tetrazolium salt in a small tube, 0.3 ml of 0.3 N sodium hydroxide solution and 0.5 ml of water are added. The mixture is just boiled and examined for the development of color. Only a very light yellow colored solution is permissible. About 0.1 ml of the unknown solution containing 1 to 20 μ g of the reductant is added and the solution boiled for 30 seconds. A colored solution depending on the type of tetrazolium salt employed results within 30 seconds. The color should be permanent and not fade. If a color develops and then fades it indicates that the redox color formation is below the limits of practical experimental conditions. In such cases the concentration of the reductant is increased. For example glucose with triphenyl tetrazolium chloride gives a color that fades at 5 μ g/ml, but a permanent color at 10 μ g/ml. When the concentration of the reducing function is 2 to 3 times the identification limit, the color formation is large and insoluble formazan separates out and the solution becomes cloudy. In such cases dropwise addition of acetone gives an intense colored solution.

Micro Identification of Sugars with Triphenyl Tetrazolium Chloride.

The test as described was applied to a large number of sugars. Triphenyl tetrazolium chloride was employed and for comparison both *Fehling's* and *Benedict's* solutions were used. The results are tabulated in Table 3. The data indicate that the tetrazolium reagent gives more sensitive results than those based upon the reduction of cupric ions.

However, from the point of view of ease of observing color changes in the tetrazolium reagents at the lower limits there is much to be desired. Many people are not able to detect the slight color change from yellow (negative) to pink (positive). For this reason and also for other applications a systematic search was made for tetrazolium salts which were not only more sensitive but also gave better visible colors on reduction, such as blue, green and violet.

Table 3. Microdetection of Sugars with Triphenyl Tetrazolium Chloride and Comparison with Methods Based on Reduction of Cupric Ions.

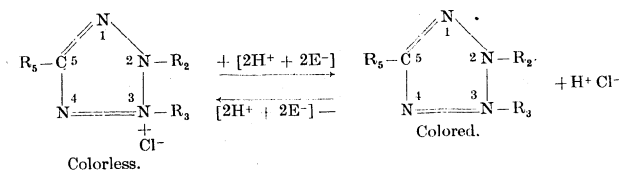
Sugar	Limits of Detection in $\mu\text{g/ml}$		
	Triphenyl Tetrazolium Reagent	Cupric Ion* (Fehling's)	Cupric Ion* (Benedict's)
Rhamnose	8-10	30	15-20
Arabinose	8-10	30	15-20
Xylose	7-10	30	15-20
Lyxose	7-10	30	15-20
Fucose	8-10	30	20-25
Glucose	7-10	30	15-20
Mannose	10-12	30	20-25
Galactose	7-10	30	15-20
Fructose	7-10	30	15-20
Maltose	10	40	15-20
Lactose	8-10	40	15-20
Cellobiose	10-12	30	15-20
Melibiose	10-12	30-40	15-20
Amygdalin	10	100	None 100
Trehalose	None	None	None 100
Sucrose	50-100 on hydrolysis	Slightly with 100	Slight 100
Raffinose	25-30	40	100

* Solution heated to boiling for 1 minute, allowed to stand for 5 minutes then observed.

New Tetrazolium Salts.

Tables 4, 5 and 6 give a summary of the tetrazolium salts synthesized in this laboratory for the past four years. A detailed discussion is being

Table 4. Monotetrazolium chlorides.



Nature of Radicals in Monotetrazolium Salts.
R₂ = phenyl in all.

R ₁	R ₂	Color on Reduction	Limits of Detection in Micrograms Of Glucose
1. Phenyl	Phenyl	Red	7-10
2. o-Tolyl	Phenyl	Red	2-3
3. m-Tolyl	Phenyl	Red	10
4. Phenyl	p-Anisyl	Violet-Red	5
5. o-Tolyl	p-Anisyl	Violet-Blue	4
6. m-Tolyl	p-Anisyl	Violet-Red	5
7. p-Tolyl	p-Anisyl	Red	5
8. Phenyl	Piperonyl	Red	200
9. o-Tolyl	Piperonyl	Red	4
10. m-Tolyl	Piperonyl	Red	25
11. p-Tolyl	Piperonyl	Violet-Red	4
12. o-Anisyl	Phenyl	Red	5
13. o-Anisyl	Piperonyl	Violet-Red	5
14. p-Anisyl	Piperonyl	Violet-Blue	5
15. 2,5-Dimethoxy-phenyl	Phenyl	Violet	5

published elsewhere. For the present discussion the data as given in these tables will suffice. Of the 32 compounds listed, 27, to the best of our knowledge, have not been previously reported or studied. Table 4 lists 15 monotetrazolium salts beginning with the triphenyl and increasing in complexity of the radicals attached in the 3- and 5-positions. It should be noted that the compounds containing ortho substituents in the radicals attached in the 3-position exhibit greater sensitivity. Also these compounds exhibited greater solubility (not shown in the table) when compared with the para- or meta-isomer.

In the compounds listed in Table 5 the substituents of positions 3- and 5- are more complex. The *o*-biphenyl radical in the 3-position provides a greater sensitivity to redox reactions as compared to the *p*-isomer and also to related compounds. Introduction of a nitro group in the *o*-biphenyl and *p*-biphenyl radicals renders the tetrazolium salts unstable at the higher pH's. Of all the monotetrazolium salts, the 2,5-diphenyl-3-*o*-biphenyl appears to be the best for the detection of reducing functions.

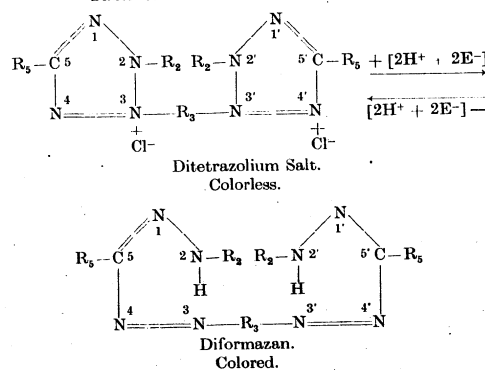
Table 5. Monotetrazolium Chlorides. Nature of Radicals in Monotetrazolium Salts. R₂ = phenyl in all.

R ₁	R ₂	Color on Reduction	Limits of Detection In Micrograms Of Glucose
16. <i>α</i> -Naphthyl	Phenyl	Violet	3
17. <i>β</i> -Naphthyl	Phenyl	Red	Unstable above pH 10
18. <i>o</i> -Biphenyl	Phenyl	Violet-Red	2
19. <i>o</i> -Biphenyl	<i>m</i> -Nitrophenyl	Orange-Red	Unstable above pH 10
20. <i>p</i> -Biphenyl	Phenyl	Violet-Red	5
21. <i>p</i> -Biphenyl	<i>m</i> -Nitrophenyl	Orange-Red	Unstable above pH 10
22. Phenyl*	Furfuryl	Red	200
23. <i>o</i> -Tolyl	Thienyl	Red	20

* Previously reported.

The ditetrazolium salts of the N-N type were known from the work of early investigators. Table 6 lists 10 ditetrazolium salts, of which 3 were previously reported. Of these three, No. 24, with a *p,p'*-diphenylene radical in the 3-position, is also called neotetrazolium, and No. 27, with a *p,p'*-orthodiansidyl radical in the 3-position, is also called Tetrazolium Blue. This name is unfortunate, because, as is shown in Table 6, a number of other ditetrazolium salts are blue. Therefore since these names most likely will become entrenched it is proposed to employ the name at the radical in the 5-position with the new blue tetrazoliums. Thus No. 28 becomes *p*-anisyl tetrazolium blue or (BTA), No. 30: veratryl tetrazolium blue or (BTV).

Table 6. Ditetrazolium Chlorides.

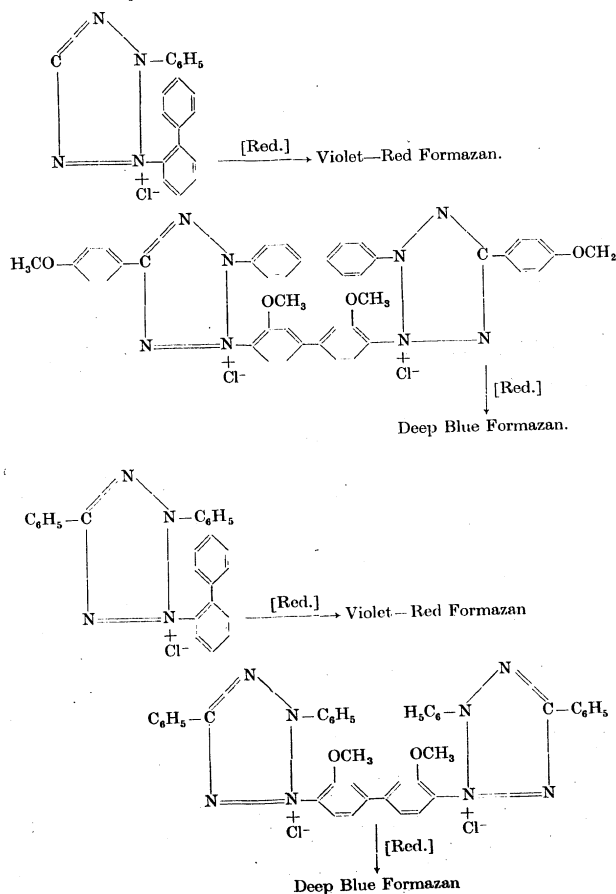


Nature of Radicals in Ditetrazolium Salts. R_2 = phenyl in all.

R_1	R_2	Color on Reduction	Limits of Detection In Micrograms Of Glucose
24. 4,4'-Diphenylene ..	Phenyl	Violet—Red	Unstable at pH 12
25. 4,4'-Diphenylene ..	<i>m</i> -Nitrophenyl	Violet—Red	Unstable at pH 12
26. <i>m</i> -Phenylene	Phenyl	Violet	Unstable at pH 12
27. 3,3'-Dimethoxy-4,4'-Diphenylene*	Phenyl (BT)	Blue—Purple	4—5
28. 3,3'-Dimethoxy-4,4'-Diphenylene ..	<i>p</i> -Methoxyphenyl (<i>p</i> -Anisyl) (BTA)	Blue	1 or less
29. 3,3'-Dimethoxy-4,4'-Diphenylene ..	2,3-Dimethoxyphenyl	Orange—Red	5
30. 3,3'-Dimethoxy-4,4'-Diphenylene ..	3,4-Dimethoxyphenyl (Veratryl) (BTV)	Blue (Greenish)	1
31. 3,3'-Dimethoxy-4,4'-Diphenylene ..	Piperonyl (BTP)	Blue	2
32. 3,3'-Dimethoxy-4,4'-Diphenylene*	Furfuryl (BTF)	Purple (Blue)	50
33. 3,3'-Dimethyl-4,4'-Diphenylene*	Phenyl	Red—Violet	Unstable at pH 12

* Previously reported.

Table 7. Microdetection of Sugars with Biphenyl Violet and *p*-Anisyl Blue Tetrazolium Reagents.



	Biphenyl Tetrazolium Violet (2,5-Diphenyl-3-o-biphenyl tetrazolium chloride)	<i>p</i> -Anisyl Tetrazolium Blue
Rhamnose	2-3	1-2
Arabinose	2-3	1-2
Xylose	2-3	1-2
Lyxose	2-3	1-2
Fucose	2-3	1
Glucose	2	1
Mannose	3	1
Galactose	2-3	1
Fructose	2	1
Maltose	3	1
Lactose	2	1
Cellobiose	3-4	1-2
Melibiose	3-4	1-2
Amygdalin	3	1-2
Trehalose	None	None
Sucrose	None	None
Raffinose	7-8	3-4

Of all the ditetrazolium salts tested, the most useful for the micro-detection of sugars is the *p*-anisyl tetrazolium blue. Table 7 summarizes data on the microdetection of various reducing sugars using the most sensitive monotetrazolium salt, biphenyl tetrazolium violet, and the most sensitive ditetrazolium salt, *p*-anisyl tetrazolium blue.

The work of determining the microdetection limits of other reducing functions of organic compounds with these selected reagents is in progress.

Summary.

The presentation is restricted to a summary of the work that has been done in the last few years in the application of micromethods to the identification of organic compounds. A critical discussion of the concept of the "proof of identity" is given in order to show that some "proofs" are more rigorous than others. For a rigorous proof of the identity of any organic compound the author believes that besides the usual color classification reactions, data on at least two constants should be available, one of which, if possible, should be the melting point (or some other constant) of a derivative of the compound under investigation. The steps of the systematic determination of identity are reviewed and their modifications by the experienced worker are discussed. In the proof of identity of microquantities there is a natural tendency to avoid isolating pure substances for determination of constants. However, the procedures developed for the derivatization of milligram quantities together with color group reactions permit rigorous proof. With microgram quantities it is often possible to prepare a derivative and use the R_f value as a constant; this is illustrated by the microderivatization of fatty acids.

The work on the derivatization of fatty acids and development of a method for their characterization using a few micrograms was done in collaboration with *Sol Cohen*. Of the 76 different kinds of compounds proposed in the literature for the derivatization of fatty acids the *p*-nitrobenzyl and 2,4-dinitrobenzyl esters and the 2,4-dinitrophenylhydrazides were investigated. The latter were selected, and suitable procedures were developed for their preparation using microquantities of fatty acids. Pure derivatives of the fatty acids C_2 to C_{10} and C_{12} , C_{14} , C_{16} and C_{18} were prepared, analyzed, and their melting points determined. Of the 13 derivatives 8 are reported for the first time. The chromatographic properties of the 2,4-dinitrophenylhydrazides of the fatty acids were studied and a satisfactory method of resolution developed.

The development of new reagents for the microdetection of reducing functions in organic compounds was done in collaboration with *H. Stein*. A brief review of the development of tetrazolium salts as redox reagents is given. A brief survey of the properties of 33 monotetrazolium and ditetrazolium salts, 28 of which were synthesized in this laboratory

during the past 4 years, is added. Two of these are 7 to 10 times more sensitive than the well known triphenyltetrazolium chloride, when compared on the basis of their limits of detection of microgram quantities of reducing sugars.

Zusammenfassung.

Die Ausführungen beschränken sich auf eine Zusammenfassung der Untersuchungen, die von uns in den letzten zwei Jahren, betreffend die Anwendung von Mikromethoden zur Erkennung organischer Verbindungen, ausgeführt wurden. Das Konzept der Identifizierung einer Substanz wird kritisch besprochen, um zu zeigen, daß die Sicherheit der Identifizierung von der Auswahl der Verfahren abhängt. Der Verfasser ist der Meinung, daß der strenge Beweis der Identität irgend einer organischen Verbindung außer der üblichen Klassifizierung durch Farbreaktionen die Angabe von wenigstens zwei physikalischen Konstanten enthalten sollte. Von diesen Konstanten sollte, wenn möglich, eine den Schmelzpunkt (oder irgend eine andere Konstante) eines Derivates der untersuchten Substanz darstellen. Die einzelnen Schritte der systematischen Bestimmung der Identität werden kurz besprochen und auf mögliche Abänderungen, die erfahrene Untersucher anwenden können, wird hingewiesen. Beim Arbeiten mit Mikromengen zeigt sich eine Neigung, die Isolierung von reinen Substanzen zwecks Bestimmung von Konstanten zu vermeiden. Dabei ist zu bedenken, daß ein strenger Beweis durch Verwendung der Mikroverfahren zur Herstellung von Derivaten möglich ist, wenn die dadurch gewonnenen Konstanten die mittels der Farbenreaktionen erhaltenen Befunde ergänzen. Mit Mikrogramm-Mengen ist es häufig möglich, ein Derivat zur Bestimmung des chromatographischen R_f -Wertes herzustellen, wie dies im Falle der Fettsäuren gezeigt wird.

Die Darstellung von Fettsäurederivaten und die Entwicklung eines Verfahrens für die Kennzeichnung der letzteren unter Benutzung von wenigen Mikrogramm wurde in Zusammenarbeit mit *Sol Cohen* durchgeführt. Von den 76 verschiedenen, in der Literatur zur Herstellung von Fettsäurederivaten vorgeschlagenen Verbindungstypen wurden die *p*-Nitrobenzyl- und 2,4-Dinitrobenzylester und die 2,4-Dinitrophenylhydrazide untersucht. Der letzte Verbindungstypus wurde ausgewählt und geeignete Verfahren zur Herstellung von Derivaten mit Mikromengen von Fettsäuren wurden ausgearbeitet. Reine Derivate der Fettsäuren mit 2 bis 10, 12, 14, 16 und 18 Kohlenstoffatomen wurden hergestellt, analysiert und ihre Schmelzpunkte bestimmt. Acht von den 13 Derivaten wurden zum erstenmal beschrieben. Die chromatographischen Eigenschaften der 2,4-Dinitrophenylhydrazide wurden studiert und eine zufriedenstellende Methode für ihre Trennung ausgearbeitet.

In Zusammenarbeit mit *H. Stein* wurden neue Reagenzien für den Nachweis reduzierender Funktionen in organischen Verbindungen gefunden. Die Entwicklung von Tetrazoliumsalzen als Redoxreagenzien wird kurz besprochen und durch eine Übersicht über die Eigenschaften von 33 Mono- und Ditetrazoliumsalzen, von denen 28 in den letzten vier Jahren im Laboratorium des Verfassers dargestellt wurden, ergänzt. Zwei dieser Salze sind 7- bis 10mal empfindlicher als das bekannte Triphenyltetrazoliumchlorid hinsichtlich der Nachweisgrenzen (Mikrogramm-Mengen) von reduzierenden Zuckern.

References.

- ¹ N. D. Cheronis and A. Vavoulis, *Mikrochem.* **38**, 428 (1952).
- ² N. D. Cheronis, *Micro and Semimicro Methods*. New York: Interscience. 1954. pp. 413-571.
- ³ L. Kofler and A. Kofler, *Thermo-Mikro-Methoden*. Weinheim, Bergstr.: Verlag Chemie. 1954.
- ⁴ F. Schneider, *Organic Qualitative Microanalysis*. New York: Wiley. 1946.
- ⁵ N. D. Cheronis and J. B. Entrikin, *Semimicro Qualitative Organic Analysis*. New York: Crowell. 1947.
- ⁶ F. Feigl, *Spots Tests*. Vol. II. Organic Applications. Amsterdam: Elsevier. 1954.
- ⁷ S. Cohen, Thesis for the Degree of Master of Arts. Brooklyn College. 1955.
- ⁸ F. Brown, *Biochemic. J.* **47**, 598 (1950).
- ⁹ M. Kreula, *Suomen Kemistilehti* **26B**, 22 (1953).
- ¹⁰ J. K. Miettinen and A. I. Virtanen, *Nature* **168**, 294 (1951).
- ¹¹ E. R. Hiscox and N. J. Berridge, *Nature* **166**, 522 (1950).
- ¹² E. P. Kennedy and H. A. Barker, *Analyt. Chemistry* **23**, 1033 (1951).
- ¹³ B. Lindqvist et al., *Intern. Dairy Congr. Proc. 13th Congr.*, Hague **3**, 1250 (1953).
- ¹⁴ F. Brown, *Nature* **167**, 441 (1951).
- ¹⁵ A. R. Jones et al., *Analyt. Chemistry* **25**, 394 (1953).
- ¹⁶ S. S. Phatak et al., *U. N. Current Sci. (India)* **21**, 162 (1952).
- ¹⁷ R. L. Reid and M. Lederer, *Biochemic. J.* **50**, 60 (1951).
- ¹⁸ E. R. Stadtman and H. A. Barker, *J. Biol. Chem.* **184**, 769 (1950).
- ¹⁹ A. R. Thompson, *Nature* **168**, 390 (1951).
- ²⁰ A. R. Thompson, *Australian J. Sci. Res. B4*, 180, 283 (1951).

- ²¹ *Amano and Tomeya*, Bull. Jap. Soc. Fisheries **16**, No. 12, 7 (1950).
- ²² *Inoue*, J. Agr. Chem. Soc. Japan **23**, 294, 368 (1950); **24**, 291 (1951); **25**, 161, 491 (1952); **27**, 50 (1953).
- ²³ *Sataki and Saki*, J. Japan. Chem. **4**, 557 (1950).
- ²⁴ *E. Lederer and M. Lederer*, Chromatography. Amsterdam: Elsevier. 1953.
- ²⁵ *R. G. Reice, G. J. Keller, and J. G. Kirchner*, Analyt. Chemistry **23**, 194 (1951).
- ²⁶ *N. D. Cheronis*, l. c.² p. 508.
- ²⁷ *P. Friedländer and P. Cohn*, Ber. dtsh. chem. Ges. **35**, 1266 (1902).
- ²⁸ *J. Cerezo and E. Olay*, Ann. soc. esp. fis. y quim. **32**, 1090 (1934).
- ²⁹ *Th. Curtius and G. M. Dedichen*, J. prakt. Chem. (2) **50**, 262 (1894).
- ³⁰ *H. Gilman and G. M. Ford*, Iowa State Coll. J. Sci. **13**, 135 (1939).
- ³¹ *R. T. Holman*, Chromatography of Fatty Acids and Related Substances in Progress in the Chemistry of Fats and Other Lipids. Vol. I. New York: Academic Press. 1952. p. 104.
- ³² *J. Asselineau*, Bull. soc. chim. France **1952**, 884.
- ³³ *V.-S. Govindarajan*, Proc. Symposium Indian Oils Fats, Natl. Chem. Lab., India Poona **1951**, 242.
- ³⁴ *B. Jacobsberg*, Rev. ferment. ind. aliment. **7**, 142 (1952).
- ³⁵ *P. Kaufmann*, Fette u. Seifen **52**, 331 (1950).
- ³⁶ *L. B. Rockland and M. S. Dunn*, Science **109**, 539 (1949).
- ³⁷ *N. D. Cheronis*, l. c.² p. 427.
- ³⁸ *H. v. Pechmann and R. Runge*, Ber. dtsh. chem. Ges. **27**, 2920 (1894).
- ³⁹ *R. Kuhn and D. Jerchell*, Ber. dtsh. chem. Ges. **74B**, 941, 949 (1941).
- ⁴⁰ *G. Lakon*, Ber. dtsh. bot. Ges. **60**, 299, 434 (1942).
- ⁴¹ *R. A. Dutcher*, Report of Interrogation of Research Workers of Agricultural High School at Hohenheim, September 21, 1945. (Technical Industrial Intelligence Branch, Joint Intelligence Service).
- ⁴² *Porter, Durrell, and Romm*, Plant Physiol. **22**, 149 (1947).
- ⁴³ *A. M. Mattson, C. O. Jensen, and R. A. Dutcher*, Science **106**, 294 (1947).
- ⁴⁴ *T. D. Waugh*, Science **107**, 275 (1948).
- ⁴⁵ *H. J. Cottrell*, Nature **159**, 748 (1947).
- ⁴⁶ *F. H. Straus, N. D. Cheronis, and E. Straus*, Science **108**, 113 (1948).
- ⁴⁷ *A. M. Mattson and C. O. Jensen*, Analyt. Chemistry **22**, 182 (1950).
- ⁴⁸ *S. Weiner*, Chemist-Analyst **37**, 56 (1948).
- ⁴⁹ *K. Wallenjels*, Naturwiss. **37**, 491 (1950).
- ⁵⁰ *W. E. Trevelyan et al.*, Nature **166**, 444 (1950).
- ⁵¹ *N. D. Cheronis, Bergman, and Grosso*, Properties of Tetrazolium Salts. New York. Section ACS Meeting, February 8, 1952.
- ⁵² *N. D. Cheronis*, l. c.² p. 475.
- ⁵³ *S. Skupp*, Thesis for the Degree of Master of Arts. Brooklyn College. 1954.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/27.

Zeilenanzahl: 192.

27th MP Crime Laboratory, US Army, Frankfurt am Main, Germany.

The Application of Microchemistry in Forensic Chemistry.

By

Livio L. Vagnina.

(Received February 11, 1955.)

Physical evidence which may be defined as potential clues to be examined, identified, and evaluated toward the solution of a crime must of necessity often call upon microchemistry as a part of scientific investigation. The scientific examination of evidence in a crime detection laboratory is not for the purpose of securing a conviction, but is for the purpose of ascertaining truth. Since the forensic chemist will often find himself testifying before courts of law he proceeds with great care and caution. There is perhaps no other branch of chemistry which can train him better for legal proceedings than microchemistry. Let us define microchemistry as "uncommon" chemistry. Uncommon because of the minute amounts of material one is called upon to analyze and uncommon because of the highly specialized and refined techniques required in doing so. The purpose of this paper is to review briefly some of the micro-techniques used at the 27th Military Police Detachment Crime Laboratory, US Army in Europe.

Blood. At a crime laboratory a large percentage of the physical evidence to be examined requires the identification and analysis of dried blood stains as well as other body fluids. In order to confirm as fact that a substance is blood crystal tests known as the haemen, haemochromogen or *Teichmann's* tests are used. All of the tests give characteristic crystals to be observed under the microscope. In many instances substances to be examined are barely visible to the naked eye. Once blood is established to be present the next application made is a micro-precipitin test. This can be conducted in fine capillary tubes to determine whether a blood stain is of human origin or not. The sensitivity of such a test is extremely high and has yielded definitely positive results for human blood when a dilution of 1 to 20,000 of a thirty-secondth of a drop was used¹. Determinations can be made both rapidly and quite accurately. However, this phase of the origin tests cannot distinguish human from primate blood and, when necessary, should be supplanted by instrumentation. An instrument known as a photoreflexometer readily separates closely related species that may not be distinguished by other techniques². Foremost among these workers are *Boyden*, *De Falco*, and *Gemeroy* of Rutgers University. The grouping of dried blood stains is next conducted using serological methods.

Paints. The analysis of paint fragments calls for micro-chemical tests since one often works with very little material. In a typical hit-and-run case the forensic chemist examines traces of paint smears which sometimes remain on the clothing of a victim, or paint chips found at the scene of an accident, or on the cars of victim and subject. Automotive finishes used in cars manufactured in the United States are generally divided into two classes: the alkyd resins (synthetic enamels) and the nitrocellulose lacquers. Approximately half of the enamels used are the metallic enamels. These paints actually include finely divided aluminum flakes. The mesh sizes of these flakes are frequently an important factor in the identification of a particular manufacturer. Likewise, approximately half of the nitrocellulose lacquers are metallic. Automotive paint can

be classified into four main categories, namely, metallic enamels, non-metallic enamels, metallic lacquers, and nonmetallic lacquers. Each one of the four main categories is then separated according to color. So the first step in the examination of paint fragments is to determine the type of paint. This can be accomplished by semi-micro-qualitative tests. If the tests establish that the paint fragments compared are of a different type of paint this constitutes negative proof.

Hairs and Fibers. What part does microchemistry play in the examination of hairs and fibers? By examining hairs under filtered ultraviolet light one can determine whether dyes are present or not. If present they can be identified, using refined techniques of the micro-chemist. The commonest of the substances used as dyes include: the phenylene- and toluenylenediamines, the methylated phenylenediamines, the amino- and diaminophenols, *p*-amino-diphenylamine, metol, hydroquinone and pyrogallol³. Criminals have long used hair bleaches and dyes for the purpose of avoiding apprehension or confusing eye witnesses to the commission of crimes. One can further determine whether hair is naturally blond or bleached, using infiltration tests devised by the FBI Laboratory⁴. The infiltration tests are predicated on the effect of the oxidizing process on the hair.

Microscopic and chemical methods conducted on a small scale are used for both identification and quantitative identification of fibers. Through the use of microchemistry certain fiber types can be dissolved and one can distinguish between hairs and natural silks, regenerated cellulose and cellulose derivatives. For example, with iodine and sulfuric acid cotton fibers swell and turn blue. The most characteristic microchemical reaction for cotton is the "ballooning" with ammoniacal copper solution or with trimethylbenzylammonium hydroxide⁵. With special dyes used with the reagents the cuticle, lumen wall, and protoplasmic remains in the fiber can be stained revealing their structure in relation to that of the cellulose cell wall which remains unstained.

Narcotics and Drugs. The primary step in examining substances suspected to contain narcotic material involves a determination as to whether the substance is alkaloidal or not. Again, one is often working with small amounts of matter. Extractions and tests must be carried out on a small scale. There is the problem of adulteration and the presence of fillers used to give bulk to a substance. Some of these narcotics include: opium, cannabis sativa, morphine, cocaine, codeine, and other morphine derivatives, as well as the newer synthetic drugs (demerol, dromoran, amidone, etc.). Often there are found minute quantities of a residue remaining in a hypodermic syringe and the problem is to identify the substance. Barbiturates and poisonous mixtures offer special difficulties of analysis.

If a substance is found to be non-alkaloidal and therefore, nonnarcotic the problem continues until the drug is identified. With cannabis sativa, commonly called marihuana microscopic, micro-chemical, and color tests are used to positively identify the substance. The *Duquenois* test is the most satisfactory test to date and has a sensitivity which can detect $\frac{1}{2}$ milligram of the resin. The Bureau of Narcotics of the US Treasury Department has made some progress toward developing a quantitative method for the estimation of the resin but it is not ready for distribution⁶. Very recently technicians of the 27th Military Police Detachment Crime Laboratory have been able to identify the known active principle of cannabis (tetrahydrocannabinol) by using a Zeiss quartz spectrophotometer. With amounts of 100 mg and less a specific curve for tetrahydrocannabinol was found.

Techniques at the crime laboratory are carried out so that instrumental analysis (X-Ray Diffraction, Fluorescence Analysis, Spectrophotometry, Spectrography, etc.) are supplemented by microchemistry.

Glass Fragments. The value of information derived from an examination of glass fragments cannot be overestimated. Whereas spectrographic analysis will reveal the constituents present in a specimen of glass other techniques must be applied to ascertain the compounds present. The

most sensitive method of analysis for determining minor differences in the properties of glass is the physical method supplied by microchemistry. The method includes density and comparative refractive index determinations. Using flotation and gradient micromethods the individualization and comparison of glass found at the scene of a crime with the glass taken away by the perpetrator of a crime may lead to his identification as having been at the scene. If, for example, two pieces of glass prove to have the same physical properties of density and refractive index it is almost certain that they are identical in chemical composition and highly probable that they are from the same source⁷. This method has the advantage that there is almost no minimum quantity as long as the substance is visible.

Soil. Microchemistry exploits fully the potentialities of the use of soil as evidence in crimes of assault, rape, murder, hit-and-run, etc. Through microscopic, spectrographic, and density comparisons the identity or non-identity of soil samples can be ascertained. Even within very short distances soils differ in their chemical and physical properties. The most accurate method of establishing identity or non-identity of soil samples is the gradient tube method first applied by *P. L. Kirk* of the University of California. When two or more tubes compared reveal the same distribution of soil in their respective gradient tubes the soils compared are in all probability from the same source. The minimum amount of soil required for such a comparison is 5 mg.

Documents. The testing of paper to determine the nature of the fibers, the testing of dried inks on paper to classify the type of ink and sometimes the age of an iron ink, the analysis of substances which may be used as an invisible ink (secret writing), the treatment of charred documents, the identification of counterfeit coins and currency, the analysis of adhesives on envelopes, the testing of documents for erasures etc. all of these have important aspects in the application of microchemistry and lend valuable support to the document examiner and forensic chemist in a detection laboratory.

Summary.

The application, then, of microchemistry in the field of forensic chemistry is unlimited. The identification of blood and body fluids, paint, hairs and fibers, narcotics and drugs, glass fragments, soil, the examination of dust, stains, explosives, metals, chemical accelerants used in arson cases, the examination of powder for firearms, the search for powder residues remaining on clothing or in the barrel of a firearm, the identification of poisonous mixtures, the analysis of tobacco, liquor, and innumerable other objects should convince any skeptic of the tremendous importance of microchemistry in the field of forensic chemistry. Though instrumental analysis may be rapid, modern, and accurate the techniques of microchemistry and instrumental analysis should supplement rather than try to replace one another.

Zusammenfassung.

Die Identifizierung von Bodenproben, Glasstücken, die Untersuchung von Staub, Flecken, Explosivstoffen, Metallen, chemischen Brandsätzen, Schießpulver, Pulverrückständen auf Kleidern oder in Gewehrläufen, die Identifizierung von Giften, die Analyse von Tabak, Getränken und zahlreichen anderen Objekten erweisen die Mikrochemie als wesentlich für die Aufgaben der forensischen Chemie. Wenn auch die instrumentelle Analyse rasch, modern und genau arbeitet, so sollen die Verfahren der Mikrochemie und der instrumentellen Analyse einander ergänzen, statt sich gegenseitig den Rang streitig zu machen.

References.

- ¹ *S. Smith and I. Glaister*, Recent Advances in Forensic Medicine. London: Churchill. 1939. p. 120.
- ² *Boyd, De Falco, and Gerneroy*, 5th Int. Congress on Blood Transfusion, September 1954.
- ³ *F. Bamford*, Poisons, Their Isolation and Identification. London: Churchill. 1951. p. 287.
- ⁴ FBI Law Enforcement Bulletin, December 1940.
- ⁵ *Matthew's*, Textile Fibers. 5th Ed., edited by *H. R. Mauersberger*. New York: Wiley 1947 p. 223.
- ⁶ Personal communication.
- ⁷ *P. L. Kirk*, Density and Refractive Index. Their Application in Criminal Identification. Springfield. Charles C. Thomas. 1951. p. 55.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/28.

Zeilenanzahl: 161.

Philips Forschungslaboratorium N. V. Philips' Gloeilampenfabrieken,
Eindhoven - Niederlande.

Bestimmung von Spurenelementen (ohne chemische Vorbehandlung) und Analyse kleinster Materialmengen mittels spektrochemischer Methoden.

Von

N. W. H. Addink.

(Eingelangt am 17. März 1955.)

Wenn man spektrochemisch analysiert, eignet sich der Gleichstrombogen am besten, Spuren von Elementen zu erfassen. Eine bestimmte Menge des vorliegenden Materials (5 oder 10 mg, bzw. 0,1 ml) wird auf die Anode gebracht und verdampft. Während der Verdampfung werden die Atome thermisch bei einer Temperatur von 4000 bis 7000° K angeregt und senden charakteristisches Licht aus, das spektral zerlegt wird. Jedes Atom zeigt seine spezifischen Wellenlängen und die Intensität jeder Wellenlänge ist ein Maßstab für die Konzentration des betreffenden Elementes nach der Gleichung (1):

$$\text{Intensität} \sim \frac{n_a}{n_g} \sim e^{-E/kT} \quad (1)$$

(n = Anzahl Atome in angeregtem Zustand (n_a)
und im Grundzustand (n_g);
 E = Anregungsenergie;
 T = absolute Temperatur;
 k = Boltzmannsche Konstante.)

Unter bestimmten, konstant gehaltenen Bedingungen kann man entweder das Licht der Säule des Bogens (Methode A) oder das von Stellen des Bogens ausgesandte Licht zur Analyse nehmen, an denen die Temperatur höher ist als in der Mitte: das sogenannte Anoden- und Kathodenlicht (Methode B). Im letzten Fall findet man nach der Gleichung (1) höhere Intensitäten und deswegen wird die untere Grenze der Nachweisbarkeit erniedrigt. Diese wird mit Q_e , jene mit K_e bezeichnet.

Schließlich kann man durch Änderung der Bogenatmosphäre die Temperatur weiter steigern beziehungsweise die Verweilzeit der Atome im Bogen verlängern. Dementsprechend wird die Nachweisbarkeitsgrenze herabgesetzt. Dies gilt insbesondere für Elemente, deren Anregungsenergie groß ist (siehe Gleichung 1).

Die Tabelle 1 zeigt mehrere Zahlen der spektrochemischen Erfassungsgrenzen im Vergleich mit analytisch-chemischen Werten. Die letzteren verdanke ich Dr. A. Claassen vom hiesigen Laboratorium. Die chemischen Erfassungsgrenzen (in μg) sind mittels eines Unicam-Spektrophotometers (gewählte Grenze: Extinktion 0,04 [= 92% Transmission] für 10 ml einer Lösung mit 4 cm Schichtdicke) bestimmt worden.

Es wird den Spektrochemiker interessieren, inwieweit K_e und Q_e voneinander abhängen. Für Elemente mit einer Ionisierungsspannung $E_i \geq 7 \text{ eV}$ hat sich experimentell folgende Beziehung ergeben:

$$\log \frac{2K_e}{Q_e} = 0,24 E_i - 0,64 \quad (2)$$

Theoretisch kann man die folgende Formel (3) aus Formel (1) ableiten, indem man die Intensität umgekehrt proportional $2K_e$ beziehungs-

Tabelle 1. Erfassungsgrenzen in μg .

Element Wellenlänge in Å	Methode A (K_e)	Methode B (Q_e)	Chemisch-analytisch
Ag 3280	0,06	0,01	0,4 Dithizon
Al 3082	0,6	0,1	0,5 8-Oxychinolin (CCl_3H)
As 2780	15	0,6	0,25 Molybdänblau
B 2498	0,3	~ 0,07	0,01 Curcumin
Be 3130	~ 0,3	0,02	0,03 Acetylaceton (CCl_3H)
Bi 3067	~ 0,35	0,06	
Cd 3261	5	0,3	
Co 3453		0,04	0,35 β -Nitroso α -naphthol
Cr 2849		0,1	0,15 Diphenylcarbazid
Cu 3247	0,03	0,01	0,4 Diäthylthiocarbamat (CCl_4)
Fe 3020	0,5	0,05	0,5 o-Phenanthrolin
Ga 2943	0,25	0,07	
Ge 3039		0,1	
Hg 2536		~ 0,3	
In 3256	~ 1,5	~ 0,2	
K 3446	~ 125	~ 10	
La 3337	4	~ 0,4	
Li 3232	10	~ 0,4	
Mg 2852	0,03	0,005	1,0 8-Oxychinolin - FeCl_3
Mn 2798	0,08	0,02	~ 0,01 4,4'-Tetramethyldia- minotriphenylmethan
Mo 3132	3	0,3	3,0 KCNS + SnCl_2
Na 3302	20	~ 3	
Nb 3195	~ 5	~ 2	
Ni 3414	0,1	0,03	0,4 Dimethylglyoxim + NaOH
P 2535	10	0,2	0,3 Molybdat + Hydrazin- sulfat
Pb 2833	2	0,15	0,3 Dithizon
Pt 3064		~ 0,1	
Sb 2598	2	0,2	
Si 2516	0,3	0,08	0,12 Molybdänblau
Sn 2840	0,5	0,1	
Ti 3242	0,8	~ 0,25	0,3 Tiron
Tl 2767		~ 0,5	
V 3185	0,7	~ 0,1	20 H_2O_2
Zn 3345	6	0,6	0,2 Dithizon
Zr 3438	~ 2		1,5 Alizarinsulfosäure

weise Q_e setzt*:

* Der Faktor 2 kommt deswegen zur Verwendung, weil bei der K_e -Bestimmung genau 5 mg benutzt werden, während bei der Q_e -Bestimmung etwa 10 mgr verdampft werden.

$$\log \frac{2K_e}{Q_e} = 0,51 \times 10^4 \left(\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right) E_i \quad (3)$$

Vergleicht man die Beziehungen (2) und (3), so fällt das Glied 0,64 ($\sim \log 4$) sofort auf. Es bedeutet, daß die Konzentration der verdampfenden Elemente in der Umgebung der Anode viermal so groß ist als in der Mitte des Bogens, ein Ergebnis, das mit anderen Erfahrungen in Übereinstimmung ist.

Setzt man die Faktoren von E_i in den Formeln (2) und (3) einander gleich, so zeigt es sich, daß bei einer Temperatur der Bogensäule von z. B. 4500° K eine mittlere Temperatur der Elektrodenflächen gleich 5700° K gefunden wird.

Bei der Methode B beeinflusst der Hauptbestandteil der zu untersuchenden Probe im Gegensatz zur Methode A die Temperatur des Bogens; infolgedessen ist die Genauigkeit herabgesetzt. Um genauere Werte zu erhalten, lohnt es sich, nach dem Additionsverfahren zu arbeiten. Es hat sich gezeigt, daß dann die Differenz mit dem arithmetischen Mittel einer Anzahl genauer chemischer bzw. spektrochemischer Bestimmungen etwa 14 bis 20% relativ betragen kann.

Man kann nun die Standardabweichung weiter um einen Faktor $1/\sqrt{n}$ herabsetzen, indem man das n der Messungen erhöht. In dieser Weise ist es uns gelungen, z. B. Zink mit einer Standardabweichung von 5% rel. in Blut zu bestimmen (der mittlere Zinkgehalt des menschlichen Blutes beträgt 0,0006%).

Die Analyse von Lösungen kann man in derselben Weise ausführen, indem man eine geringe Menge (z. B. 0,1 ml) auf speziell präparierten Graphitelektroden bis zur Trockne verdampft (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2.

Element	Lösung	Spektrochemisch mg/ml	Chemisch mg/ml
Fe	A. C. T. H. Lösung	0,04	0,03
Cu	A. C. T. H. Lösung	0,02 ^s	0,02
Fe	J ¹⁵¹ Lösung + KJ	0,002	0,001
Sn	Wässrige Lösung + KJ	0,02	0,025
Ni	Wässrige Lösung + KJ	0,008	0,010

Eine schon oben erwähnte Möglichkeit zur Erweiterung der Nachweisbarkeitsgrenze besteht darin, daß man die Anregung der Atome im Bogen in stärkerem Maße zustande bringt. In einer Argonatmosphäre wurde so bei Elementen mit höherer Ionisierungsspannung ($\geq 9 \text{ eV}$) ein Faktor 10 gewonnen. Diese Untersuchungen sind noch im Gange.

Es ist selbstverständlich, daß man, wenn äußerst geringe Materialmengen vorliegen, mittelspektrochemischer Methoden doch ziemlich genau die Bestandteile bestimmen kann. Es brauchen nur die Hauptlinien der Elemente gemessen zu werden. Die benötigte Menge kann man theoretisch der Tabelle 1 entnehmen; man braucht nur Bruchteile von Milligrammen, in der Praxis 0,1 bis 0,01 mg.

Zusammenfassung.

Die mikrochemischen und spektrochemischen Erfassungsgrenzen von mehreren Spurenelementen werden angegeben. Es besteht ein Zusammenhang zwischen den bei verschiedenen Temperaturen spektrochemisch bestimmten unteren Grenzen der Nachweisbarkeit. Schließlich werden einige Daten hinsichtlich der minimalen Quantität der Probe angeführt.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/29.

Zeilenanzahl: 725.

Laboratoire Municipal de Paris, Section de Microanalyse.

Microdosage des halogènes dans les composés organiques.

Microdétermination argentométrique des mélanges des ions
chlore et brome par la méthode des potentiels repérés après
minéralisation par le peroxyde de sodium.

Par

R. Lévy.

(Reçu le 16 Mars 1955.)

I. Introduction.

Nous avons publié antérieurement une méthode de microdosage des halogènes comportant une minéralisation des composés organiques halogénés par le peroxyde de sodium et un titrage argentométrique par potentiels repérés*. Elle permet d'effectuer très rapidement des détermi-

* Premier Congrès International de Microchimie de Graz¹⁴.

minations en série sur des prises d'essais d'environ 5 mg pour le chlore et 2 à 3 mg pour le brome avec des réactifs titrants respectivement 0,01 N et 0,002 N.

La grande sensibilité de la détermination du brome permet en particulier à cette technique de concurrencer les processus iodométriques décrits par différents auteurs^{1, 2, 24, 18, 10, 9} et qui comportent le titrage des ions $(\text{BrO}_3)^-$ avec un coefficient multiplicatif égal à 6**.

** La présence initiale de chlore ne perturbe évidemment pas ces déterminations.

Il était donc intéressant d'étudier l'extension de la méthode de dosage argentométrique potentiométrique au cas de la présence simultanée du chlore et du brome dans un composé organique.

Or l'introduction progressive de nitrate d'argent dans une solution d'ions Br^- et Cl^- ne donne pas lieu aux précipitations successives de bromure et de chlorure d'argent que la simple considération des produits de solubilité de ces deux sels permettrait de prévoir: le précipité initial n'est pas constitué par du bromure d'argent pur car il entraîne toujours une certaine proportion de chlorure d'argent^{4, 7, 12, 13, 23, 27}.

Ainsi, bien qu'il demeure possible de déterminer la quantité de nitrate d'argent équivalent à la totalité des deux halogènes, il n'existe plus, par contre, de point équivalent intermédiaire correspondant au dosage du brome.

Différents moyens permettent de pallier cet inconvénient à l'échelle macroanalytique^{7, 8, 19, 22} mais ils sont tous associés à la mise en œuvre de l'argentométrie potentiométrique classique dont l'emploi est prohibé à l'échelle microanalytique par défaut de sensibilité*.

* ce défaut est considérablement accru par la présence de chlore.

La détermination du point final de titrage du brome avec un réactif 0,01 N a pu cependant être effectuée par Winteringham, Bridges et Harrison²⁵ par application d'une technique d'argentométrie potentiométrique dérivée de celles de Pinkhof²¹ et de Northrop²⁰ sous réserve d'ajuster préalablement la concentration globale du brome et du chlore à une valeur constante. En réalité les titrages étaient effectués sur des parties aliquotes d'une solution mère provenant de la minéralisation de prises d'essais macroanalytiques par le système sodium-éthanolamine-dioxane et la méthode ne permettait d'obtenir que des résultats irréguliers et assez peu précis.

Nous avons pu au contraire donner une solution satisfaisante au problème de la microanalyse de mélanges d'ions Br^- et Cl^- tel qu'il résultait de la minéralisation par le peroxyde de sodium par application de notre méthode d'argentométrie par potentiels repérés^{15, 17}.

L'objet du présent exposé est de décrire ces recherches et les résultats qu'elles permettent d'obtenir. Dans le prochain paragraphe, nous rappellerons tout d'abord le principe de la méthode employée et donnerons quelques précisions nouvelles concernant les électrodes et l'appareillage de mesures potentiométriques.

II. Minéralisation et titrage: Principes — Appareillage.

Les substances organiques halogénées sont minéralisées par le peroxyde de sodium. Au cours de nos travaux cette opération a toujours été effectuée en microbombe de Parr¹⁴ mais leurs résultats restent valables si l'on emploie la bombe universelle de Wurzschnitt²⁶ ou le creuset de nickel d'après Kainz et Resch¹¹ sous condition de toujours utiliser la même quantité totale de peroxyde de sodium (3 g).

La masse d'attaque est dissoute quantitativement, portée à l'ébullition pour destruction de l'eau oxygénée formée, neutralisée par l'acide sulfurique approximativement 15 N (2 volumes d'acide concentré + 3 volumes d'eau distillée) en présence d'hélianthine comme indicateur et finalement acidifiée par 0,05 à 0,5 ml de cet acide.

Avec la solution ainsi obtenue, on constitue une cellule potentiométrique comportant un système d'électrodes: argent-calomel^{14, 17}.

Le titrage d'un halogène seul est effectué par addition d'une solution de nitrate d'argent (0,01 N pour le chlore ou 0,002 N pour le brome) jusqu'à ce que la f. e. m. de cette cellule atteigne les valeurs $(E_{\text{Cl}})_e$ ou $(E_{\text{Br}})_e$ définissant les conditions d'équivalence de dosage du chlore ou du brome. Les f. e. m. d'équivalence sont déterminées au préalable sur des cellules préparées de façon identique, mais dans lesquelles les ions Cl^- ou Br^- ont été introduits en quantités connues¹⁴, après addition d'un volume équivalent de solution titrante de nitrate d'argent.

Appareillage de mesures potentiométriques.

La mesure (en unités quelconques) des f. e. m. des cellules potentiométriques est effectuée à l'aide d'un circuit potentiométrique classique dont l'appareil de zéro est un microampèremètre à rhéostat de shunt réglable (sensibilité variable). Le courant électrique traversant la cellule en cours de titrage étant susceptible d'apporter des perturbations, il convient de réduire son intensité au maximum; à cette fin, la tension somme algébrique de la f. e. m. de la cellule et de la d. d. p. du potentiomètre est appliquée aux bornes du circuit d'entrée d'un amplificateur électronique dont le circuit de sortie se ferme sur le microampèremètre.

L'amplificateur à courant continu que nous avons utilisé dans nos travaux antérieurs¹⁴ présentait une importante dérive de zéro fort gênante pour les travaux exécutés à l'échelle microanalytique; c'est pourquoi il a été remplacé par un amplificateur à courant alternatif très stable comportant un dispositif modulateur sur le circuit d'entrée et un redresseur sur le circuit de sortie^{*16}.

* Titrimètre Jouan — Paris.

Les f. e. m. sont mesurées directement par lecture sur l'alidade graduée du potentiomètre qui est taré d'autre part par rapport à un élément Weston.

L'impédance du circuit d'entrée de l'amplificateur doit être suffisamment élevée non seulement pour éliminer pratiquement les phénomènes de polarisation dus au passage du courant dans la cellule, mais également pour permettre l'emploi de l'électrode au calomel du type crayon^{3, 14} dont la résistance électrique propre prohibe l'utilisation avec un amplificateur quelconque. La sensibilité et la stabilité de l'appareillage doivent permettre la mesure de variations de f. e. m. de la cellule de l'ordre de grandeur du millivolt.

Avec un tel montage un titrage consiste à introduire dans la cellule potentiométrique un volume de solution de nitrate d'argent nécessaire et suffisant pour amener à zéro l'aiguille du microampèremètre, la d. d. p.

du potentiomètre ayant été ajustée à la valeur de la f. e. m. d'équivalence $(E_{Cl^-})_e$ ou $(E_{Br^-})_e$ préalablement déterminée.

La cellule potentiométrique proprement dite n'a subi que des modifications mineures¹⁷ depuis sa première description¹⁴. Il importe toutefois de préciser quelques spécifications concernant les électrodes.

Electrode au calomel.

Le capillaire obturé par un brin d'amiante qui établit la connexion de l'électrode avec le pont de liaison^{14, 3} doit être suffisamment fin pour interdire toute diffusion des ions Cl^- pendant un temps limité. Dans la pratique, on ne doit pas pouvoir déceler d'ions Cl^- par le test au nitrate d'argent dans un volume de 10 ml d'eau distillée dans laquelle l'extrémité de l'électrode au calomel a été immergée pendant 15 minutes.

Electrode d'argent.

Les cylindres d'argent de 5 à 6 mm de diamètre qui sont utilisés comme électrodes doivent subir une «formation» avant emploi^{5, 17}.

A cet effet le barreau d'argent doit tout d'abord être décapé avec du papier émeri fin s'il est vierge ou si sa surface est altérée par suite d'un emploi prolongé ou pour toute autre cause; il est ensuite rincé à l'eau distillée puis essuyé avec du papier Joseph afin d'éliminer les particules de poussière d'argent.

Pour sa formation proprement dite, le barreau est plongé dans un bécher contenant 10 ml d'une solution type de l'ion halogène considéré, diluée au volume final V_f adopté pour les titrages par addition d'eau distillée; sous agitation on introduit ensuite progressivement un volume équivalent de la solution titrante de nitrate d'argent et laisse encore l'électrode pendant quinze minutes en présence de la suspension de l'halogénure d'argent qui vient de précipiter. Après ce traitement comme d'ailleurs après emploi lors d'un titrage effectif, l'électrode extraite de la solution est rincée avec un jet d'eau distillée et peut être ensuite utilisée telle quelle, soit pour la mesure d'une f. e. m. d'équivalence, soit pour un nouveau titrage. Au cours d'une série de dosages, il peut arriver qu'elle se recouvre d'un dépôt d'halogénure d'argent; elle doit alors être nettoyée par simple essuyage avec du papier filtre avant d'être remise en service.

L'expérience montre, d'autre part, que si la formation d'une électrode est recommandable, quel que soit l'ion halogène à déterminer, elle n'est absolument nécessaire que pour le microdosage des ions Br^- .

Dans ce cas, en effet, le potentiel d'équivalence d'une électrode d'argent vierge peut excéder d'une vingtaine de millivolts celui d'une électrode préalablement formée dans le bromure d'argent: pour les ions Cl^- , cette différence n'existe pas.

Il convient d'insister sur le fait que la formation d'une électrode ne lui confère pas, en général, l'universalité d'emploi: une électrode destinée au dosage des ions Cl^- pourra être utilisée indifféremment à l'état vierge ou après formation dans le chlorure ou le bromure d'argent; après un premier titrage elle ne sera d'ailleurs plus utilisable que pour les ions Cl^- ; une électrode destinée au dosage des ions Br^- devra être exclusivement formée dans le bromure d'argent.

Les remarques précédentes sont particulièrement importantes dans le cas de titrages effectués sur les mélanges d'ions Br^- et Cl^- ; c'est ainsi que nous doserons le brome en présence de chlore en utilisant une électrode formée dans le bromure d'argent; cette même électrode sera susceptible d'être employée dans une série de dosages sans altération de sa formation sous condition que l'addition de nitrate d'argent ne soit point poursuivie au delà de la f. e. m. $(E_{Br^-})_e$ de la cellule potentiométrique; quant au dosage de la totalité des ions Br^- et Cl^- il pourra être effectué en utilisant la même électrode que pour les ions Cl^- seuls.

III. Sur l'application de l'argentométrie par potentiels repérés aux solutions d'ions Br^- et Cl^- obtenues après minéralisation par le peroxyde de sodium.

J'ai tout d'abord vérifié que cette méthode permettait le titrage de la somme des halogènes par application pure et simple du mode

opérateur décrit pour le microdosage du chlore seul (réactif titrant 0,01 N — f. e. m. de fin de titrage = $(E_{Cl})_e$)¹⁴.

Quant au dosage du brome (avec du nitrate d'argent 0,002 N), il donne lieu aux anomalies attendues: c'est ainsi qu'après addition de réactif titrant en quantité équivalente au brome en solution, la f. e. m. de la cellule potentiométrique varie dans de larges limites suivant la composition du mélange chlore-brome; si inversement l'addition de nitrate d'argent est arrêtée lorsque la f. e. m. de la cellule atteint la valeur d'équivalence $(E_{Br})_e$ déterminée pour les ions Br^- seuls, le volume du réactif consommé excède le volume équivalent d'une quantité ϵ_{Br} variable avec la composition de la solution.

Le volume ainsi déterminé serait donc utilisable pour le microdosage du brome s'il était possible de lui faire subir une correction égale à ϵ_{Br} et prévisible d'après les données analytiques.

Or ϵ_{Br} varie en fonction de 3 paramètres caractérisant la solution d'ions halogènes:

- 1 — la force ionique
 - 2 — la quantité d'ions Cl^- ou composition de la solution en ions
 - 3 — la quantité d'ions Br^- halogènes.
- Il importe d'en examiner l'influence.

Force ionique de la solution.

La solution à titrer, préparée comme il a été indiqué, contient comme constituant principal du sulfate de sodium en quantité équivalente à la masse de peroxyde de sodium employée pour la minéralisation; la valeur de la force ionique ne varie donc pratiquement qu'en fonction des concentrations des ions SO_4^{--} , SO_4H^- et Na^+ . La masse de peroxyde de sodium ayant été fixée une fois pour toutes à 3 g (cf. ¹⁴) il en résulte que ces concentrations ne dépendent, en milieu légèrement acide, au voisinage de la neutralité, que du volume final de titrage V_f .

L'expérience montre effectivement que l'écart ϵ_{Br} ne varie pas sensiblement en fonction de l'acidité de la solution mais qu'il est d'autant plus faible que le volume V_f est plus grand, toutes autres conditions étant égales d'ailleurs; il s'ensuit que l'on a intérêt à donner à V_f une valeur aussi élevée que possible qui doit toutefois permettre de conserver une sensibilité potentiométrique de titrage suffisante. Nous avons été ainsi conduit à adopter le volume final $V_f = 200$ ml pour lequel la sensibilité potentiométrique est encore de l'ordre de grandeur de 1,5 millivolt par goutte de réactif titrant (0,025 ml) valeur juste compatible avec la technique et l'appareillage mis en œuvre.

Le volume choisi $V_f = 200$ ml présente d'ailleurs un autre avantage, celui de réduire à une vingtaine de secondes le temps nécessaire à la stabilisation de la f. e. m. finale de titrage alors qu'il atteint environ 5 min lorsque V_f n'est que de 80 ml (volume adopté dans le cas du microdosage du brome seul¹⁴).

V_f est l'unique caractéristique qui différencie la technique de dosage du brome dans ses mélanges avec le chlore de celle qui a été décrite pour le brome seul¹⁴. Cette technique sera appliquée intégralement, à ce détail près, dans toutes les déterminations ultérieures (mesures de $(E_{Br})_e$ ou titrages).

Composition de la solution en ions halogènes.

Nous avons remarqué que l'écart ϵ_{Br} est reproductible et ne dépend que des quantités d'ions Br^- et Cl^- en présence dans la solution à titrer, sous réserve de maintenir constante la valeur finale V_f du volume de titrage.

Si ces quantités sont respectivement exprimées par les volumes u et v de réactif titrant 0,002 N qui leur sont équivalents il devrait exister une expression mathématique $\epsilon_{Br} = \Phi(u, v)$ représentant la loi de variation de ϵ_{Br} . En fait, une formule de correction relative a déjà été établie et appliquée par Flood et Bruun^{6,7} en macroanalyse dans le cas où le point final du titrage du brome en présence de chlore est assimilé au point d'inflexion correspondant de la courbe d'argentométrie potentiométrique. Supposant comme ces auteurs une précipitation de

cristaux mixtes de bromure et de chlorure d'argent et partant des mêmes équations fondamentales, nous avons établi des expressions de ϵ_{Br} qui n'ont cependant pu permettre d'interpréter ou de prévoir nos résultats expérimentaux; il en a été de même lorsque l'hypothèse de la précipitation de cristaux mixtes a été complétée par une hypothèse d'adsorption¹⁷.

Il restait donc à rechercher une éventuelle expression empirique $\epsilon_{Br} = \Phi(u, v)$, sur la base de résultats numériques expérimentaux; pour qu'une telle relation puisse être facilement exploitable, il convient toutefois d'y remplacer les variables u et v qui sont les inconnues du problème par des données fournies par l'analyse, c'est-à-dire les volumes de réactif titrant s équivalent à la somme des halogènes et u' consommé au point final de titrage du brome; s et u' sont d'ailleurs liés aux inconnues par les relations simples:

$$s = u + v \qquad u' = u + \epsilon_{Br}.$$

Il est, en outre, commode d'introduire une nouvelle variable

$$v' = s - u' = v - \epsilon_{Br};$$

* u' et v' sont respectivement les volumes de réactif non corrigés correspondant aux titrages des ions Br^- et Cl^- .

les formules représentant la loi de variation de ϵ_{Br} peuvent alors s'écrire:

$$\epsilon_{Br} = \Phi[(u' - \epsilon_{Br}), (v' + \epsilon_{Br})]$$

et, s'il est possible d'extraire ϵ_{Br} , elles fournissent de nouvelles expressions de la forme:

$$\epsilon_{Br} = F(u', v').$$

Nous avons donc établi expérimentalement un tableau de valeurs numériques de ϵ_{Br} pour des mélanges $u-v$ connus; afin de limiter raisonnablement l'étendue d'un tel travail, il a été tout d'abord nécessaire de définir un domaine de variations de u et de v . Nous l'avons dénommé domaine microanalytique, il est caractérisé par les doubles inégalités suivantes:

$$\begin{aligned} 0 < u &\leq 10 \text{ ml de réactif } 0,002 \text{ N.} \\ 0 < v &\leq 10 \text{ ml de réactif } 0,002 \text{ N.} \end{aligned}$$

Les déterminations qui ont été effectuées ont montré en premier lieu qu'il convenait d'éliminer toutes valeurs de u inférieures à 0,5 ml car les variations de ϵ_{Br} dans ce domaine ne semblaient pas suivre une loi correspondant à un phénomène physique simple. Sous cette réserve nous avons pu observer que pour toute valeur constante de v la variation de ϵ_{Br} en fonction de u' avait une allure logarithmique et pouvait s'écrire:

$$(\epsilon_{Br})_v = \alpha_v \log_{10}(\gamma + u') + \beta_v.$$

Dans cette équation on peut attribuer au coefficient γ une valeur constante tandis que l'on constate que les coefficients α_v et β_v sont des fonctions linéaires de v ¹⁷; la loi empirique représentative des variations de ϵ_{Br} ainsi établie a pour expression:

$$\epsilon_{Br} = (0,072 v + 0,144) \log_{10}(3 + u') - (0,02 v' + 0,088) \quad (1)$$

Si on lui adjoint la relation $v = v' + \epsilon_{Br}$ il est aisé d'éliminer v de l'équation (1); il vient alors finalement:

$$\epsilon_{Br} = \frac{(0,072 v' + 0,144) \log_{10}(3 + u') - (0,02 v' + 0,088)}{1,02 - 0,072 \log_{10}(3 + u')} \quad (2)$$

La comparaison des valeurs de ϵ_{Br} fournies par l'expérience ou par le calcul (formules 1 ou 2), montre que leur écart absolu moyen est égal à 0,013 ml tandis que les valeurs expérimentales extrêmes de ϵ_{Br} obtenues pour un même couple de paramètres $u-v$ peuvent différer de 0,02 à 0,03 ml; l'accord des expressions mathématiques 1 et 2 avec l'expérience est donc des plus satisfaisants; on remarque toutefois que pour les faibles teneurs en chlore ($v < 1$), le calcul donne lieu à des corrections ϵ_{Br} anormalement élevées; en particulier, en l'absence de chlore ($v = 0$) alors qu'il n'existe normalement aucune correction à apporter au microdosage du brome, les formules fournissent cependant une valeur

de ϵ_{Br} non négligeable.

En fait, des déterminations expérimentales effectuées pour des faibles valeurs de v montrent que ϵ_{Br} , d'abord pratiquement nul pour $v \leq 0,5$, croît rapidement de $v = 0,5$ à $v = 1$ et suit au-delà de $v = 1$ les variations représentées par les précédentes formules, quelle que soit la valeur de u considérée dans le domaine microanalytique.

Dans la pratique, il apparaît que les variations de la correction ϵ_{Br} dans la zone $0,5 \leq v \leq 1$ du domaine microanalytique peuvent être représentées, pour une même valeur de u , par interpolation linéaire entre les valeurs que prend cette correction pour $v = 0,5$ et $v = 1$ (d'après la formule 1), soit encore entre $\epsilon_{Br} = 0$ et

$$\epsilon_{Br} = 0,216 \log(3 + u') - 0,108;$$

il vient donc:

$$\epsilon_{Br} = \frac{v - 0,5}{1 - 0,5} [0,216 \log_{10}(3 + u') - 0,108] = (v - 0,5) [0,432 \log_{10}(3 + u') - 0,216] \quad (3)$$

ce qui s'écrit, après élimination de v comme dans la formule 1:

$$\epsilon_{Br} = (v' - 0,5) \frac{0,432 \log_{10}(3 + u') - 0,216}{1,216 - 0,432 \log_{10}(3 + u')} \quad (4)$$

Ainsi la connaissance de u' et de v' permet de déterminer:

1°) la valeur de ϵ_{Br} qui peut être nulle,

$$\epsilon_{Br} = 0 \quad (5)$$

ou se calculer d'après les formules 2 ou 4,

2°) les valeurs de $u = u' - \epsilon_{Br}$ et $v = v' + \epsilon_{Br}$ fournissant ainsi la solution du problème de microanalyse.

On peut toutefois se demander s'il est possible d'exploiter des déterminations analytiques u' et v' correspondant à des mélanges $u - v$ situés à l'extérieur du domaine considéré (valeurs de u ou (et) de v supérieures à 10 ml).

Avant de répondre à cette question, il convient tout d'abord de remarquer que la microanalyse élémentaire est surtout réservée à l'étude de produits définis pour lesquels les volumes u et v sont généralement entre eux dans un rapport simple; il est alors aisé de choisir judicieusement la prise d'essai analytique pour que ces paramètres appartiennent au domaine microanalytique.

Dans tous les autres cas, l'interprétation des résultats u' et v' est subordonnée à la détermination expérimentale préalable de ϵ_{Br} sur des mélanges synthétiques $u - v$ dont l'identité avec le mélange inconnu peut-être réalisée par approximations successives.

Toutefois, la délimitation de domaines d'extrapolation satisfaisante des formules de calcul de ϵ_{Br} permet de rendre exceptionnel le recours à ce long processus expérimental; ce travail a pu être effectué sur la base d'une simple comparaison entre les valeurs extrapolées et déterminées expérimentalement de ϵ_{Br} ¹⁷.

Nous définirons avec précision dans le tableau I les limites ainsi établies pour les domaines d'extrapolation explorés.

IV. Modes opératoires.

Nous aborderons tout d'abord le problème le plus général de la microanalyse des mélanges chlore-brome qui comporte le dosage de chacun de ces deux éléments. Il peut cependant arriver que seule importe la connaissance de la teneur de l'un des halogènes; il est alors intéressant de rechercher la possibilité d'application d'un protocole d'analyse plus simple. Ce problème particulier peut recevoir effectivement une solution partielle dans le cas du dosage de brome en présence de chlore, il sera traité en second lieu.

A. Microdosages du chlore et du brome dans leurs mélanges.

Les formules 2 et 4 de calcul de la correction ϵ_{Br} comportent deux paramètres u' et v' ; u' est le résultat du titrage effectif des ions Br^-

en présence d'ions Cl^- ; v' est la différence $v' = s - u'$ dans laquelle s représente le volume de nitrate d'argent équivalent à la somme des ions Br^- et Cl^- dans la même prise d'essai.

Les conditions des déterminations de u' et de la somme des halogènes étant différentes, il convient de les effectuer sur deux prises d'essais distinctes.

Sur l'une d'entre elles pesant μ_1 mg (5 à 7 mg suivant les cas) on détermine le volume q ml de nitrate d'argent 0,01 N équivalent à la somme des halogènes par application pure et simple du mode opératoire que nous avons décrit antérieurement pour le chlore seul¹⁴.

Sur l'autre pesant μ_2 mg (2 à 3 mg suivant les cas) on détermine le volume u' de nitrate d'argent 0,002 N apparemment équivalent au brome par application du mode opératoire que nous avons antérieurement décrit pour le dosage du brome seul¹⁴, mais en élevant le volume final de titrage à la valeur $V_f = 200$ ml.

Le volume v' apparemment équivalent au chlore, rapporté à la prise de μ_2 mg sera donc donné par la formule:

$$v' = s - u' = 5 \frac{\mu_2}{\mu_1} q - u' \text{ ml de nitrate d'argent 0,002 N.}$$

Il reste à déterminer la correction ϵ_{Br} qui permettra le calcul des volumes corrigés $u = u' - \epsilon_{\text{Br}}$ et $v = v' + \epsilon_{\text{Br}}$ effectivement équivalents au brome et au chlore contenus dans la prise μ_2 . Tous résultats qui fourniraient des valeurs de u inférieures à 0,5 ml devraient être rejetés car dans cette zone la correction ϵ_{Br} peut en effet atteindre une côte relativement élevée sans pouvoir toutefois être déterminée avec sûreté. Hormis ce cas particulier, les teneurs en brome et en chlore cherchées auront pour expressions:

$$\text{Brome } \% = \frac{15,9832 u}{\mu_2} \quad \text{Chlore } \% = \frac{7,0917 v}{\mu_2}$$

La valeur de ϵ_{Br} peut être nulle ou se calculer d'après les formules 2 ou 4 selon les valeurs de u et de v ; les différentes éventualités qui peuvent se présenter sont examinées dans le tableau guide suivant:

Tableau I. Guide pour le choix de la formule de calcul de ϵ_{Br} .

Domaine microanalytique $0,5 \leq u \leq 10$ $0 < v \leq 10$	$\left\{ \begin{array}{l} 1 \leq v \leq 10^* \\ 0,5 \leq v \leq 1 \\ v \leq 0,5 \end{array} \right\}$	formule 2 formule 4 formule 5
Domaine d'extrapolation de l'excès de chlore $v > 10$	$\left\{ \begin{array}{l} 10 < v \leq 15 \\ 0,5 \leq u \leq 1 \end{array} \right\}$ $\left\{ \begin{array}{l} 10 < v \leq 15 \\ 9 \leq u \leq 10 \end{array} \right\}$	formule 2* formule 2
Domaine d'extrapolation de l'excès de brome $u > 10$	$\left\{ \begin{array}{l} 10 \leq u \leq 15 \\ 1 \leq v \leq 10 \end{array} \right\}$ $\left\{ \begin{array}{l} 15 \leq u \leq 20 \\ 1 \leq v \leq 5 \end{array} \right\}$	formule 2 formule 2

* la formule 2 peut encore s'appliquer pour toutes valeurs de v excédant 10 ml, jusqu'au voisinage de 11 ml et pour toute valeur de u du domaine microanalytique.

$$\text{Formule 2 } \epsilon_{\text{Br}} = \frac{(0,072 v' + 0,144) \log_{10} (3 + u') - (0,02 v' + 0,088)}{1,02 - 0,072 \log_{10} (3 + u')}$$

$$\text{Formule 4 } \epsilon_{\text{Br}} = (v' - 0,5) \frac{0,432 \log_{10} (3 + u') - 0,216}{1,216 - 0,432 \log_{10} (3 + u')}$$

$$\text{Formule 5 } \epsilon_{\text{Br}} = 0.$$

Dans la pratique on choisit dans ce tableau-guide la formule appropriée de calcul de ϵ_{Br} sur la base des valeurs u' et v' fournies directement par l'analyse sous réserve de vérifier a posteriori qu'elle correspond bien aux valeurs finalement trouvées pour u et v . Il est d'ailleurs recommandable, dans la mesure du possible, d'effectuer des prises d'essai qui permettent l'emploi de la formule 2 qui est la plus générale.

Lorsque dans certains cas spéciaux les résultats de titrage u' et v' ne correspondent pas à des valeurs de u et v permettant l'emploi des formules de calcul de ε_{Br} , il reste cependant possible de les exploiter pour l'analyse. A cette fin on détermine expérimentalement la correction ε_{Br} à leur appliquer sur une cellule potentiométrique type dont les paramètres u_1-v_1 s'obtiennent à partir des relations

$$u_1 = u' - (\varepsilon_{Br})_{calc.} \quad v_1 = v' + (\varepsilon_{Br})_{calc.}$$

dans lesquelles $(\varepsilon_{Br})_{calc.}$ est calculée en première approximation d'après la formule 2. Si exceptionnellement les valeurs de u et v obtenues sont très éloignées des domaines d'extrapolation prospectés il pourra devenir nécessaire de déterminer par approximations expérimentales successives

$$(\varepsilon_{Br})_1 \dots (\varepsilon_{Br})_i \dots (\varepsilon_{Br})_n$$

sur des cellules potentiométriques types de paramètres $u_i = u' - (\varepsilon_{Br})_{i-1}$ et $v_i = v' + (\varepsilon_{Br})_{i-1}$ jusqu'à ce que la dernière valeur $(\varepsilon_{Br})_n$ ainsi obtenue soit pratiquement identique à la précédente $(\varepsilon_{Br})_{n-1}$; si elle est reproductible, elle permet de calculer enfin $u = u' - (\varepsilon_{Br})_n$ et $v = v' + (\varepsilon_{Br})_n$ et fournit par conséquent la solution du problème cherché.

B. Microdosage de l'un des halogènes (chlore ou brome) en présence de l'autre sur une seule prise d'essai.

La méthode décrite au paragraphe précédent comporte deux déterminations distinctes effectuées sur deux prises d'essai analytiques et conduit aux microdosages du chlore et du brome; il convient de rechercher l'éventuelle possibilité d'effectuer la détermination d'un seul des halogènes sur un prélèvement unique.

Dans le cas du chlore, la f. e. m. d'équivalence $(E_{Cl})_e$ ne permet de définir que le point final du titrage de la somme des halogènes du mélange; il sera donc toujours nécessaire de déterminer accessoirement le brome afin d'obtenir ensuite le chlore par différence. A cet effet, il serait éventuellement possible de doser le brome sur la prise d'essai servant à la détermination de la totalité des halogènes en arrêtant intermédiairement le titrage à la f. e. m. d'équivalence $(\varepsilon_{Br})_e$, mais il deviendrait alors nécessaire d'effectuer une nouvelle étude des corrections ε_{Br} dans les conditions actuelles et défavorables de la solution*.

* cf. ce travail sur le choix du volume final V_f (§ II).

Nous nous limiterons donc à l'étude du microdosage du brome en présence de chlore sur une prise d'essai unique. A cette fin, il convient de rechercher tout d'abord l'influence d'une éventuelle approximation de la détermination de v sur la précision du calcul algébrique de ε_{Br} ; elle est mise en évidence par l'examen de la dérivée partielle:

$$\frac{\partial \varepsilon_{Br}}{\partial v} = 0,072 \log_{10} (3 + u') - 0,02 \quad (6)$$

déduite de l'équation 1.

Si nous nous limitons au domaine microanalytique, on peut admettre que $3 + u' < 13$ soit $\log (3 + u') < 1,114$; il en résulte que

$$\frac{\partial \varepsilon_{Br}}{\partial v} < 0,06 \text{ et par suite } |\Delta \varepsilon_{Br}| < 0,06 |\Delta v|.$$

Or si après avoir déterminé u' on poursuit le titrage par argentométrie potentiométrique jusqu'à la f. e. m. d'équivalence apparente $(E_{Cl})_e$ du chlore, l'expérience montre que l'on ne peut déterminer ainsi v' qu'avec une très grossière approximation car la sensibilité potentiométrique est alors très faible; on peut estimer à environ 0,5 ml l'erreur maximum $|\Delta v'|$ qui peut être corrélativement commise sur la détermination de v' .

Si nous rappelons d'autre part que $v = v' + \varepsilon_{Br}$ et que par conséquent $|\Delta v| \leq |\Delta v'| + |\Delta \varepsilon_{Br}|$ il vient finalement $|\Delta \varepsilon_{Br}| < \frac{0,06}{1-0,06} |\Delta v|$ soit sensiblement $|\Delta \varepsilon_{Br}| < 0,03 \text{ ml}$.

Cette limite d'erreur est du même ordre de grandeur que les erreurs

expérimentales susceptibles d'être commises sur la détermination directe de u' ; on peut donc conclure qu'il est effectivement possible de doser le brome en présence de chlore sur une prise d'essai unique, sur la base des déterminations successives de u' et de v' , mais que les résultats corrigés de titrage du brome peuvent être entachés d'une erreur absolue deux fois plus élevée que l'erreur normale; la rigueur de cette conclusion peut cependant être parfois atténuée si l'on prend soin de calculer exactement la limite supérieure de $|\Delta \epsilon_{Br}|$ d'après l'équation 6, pour chaque titrage particulier.

Il importe d'ailleurs de remarquer que la détermination de v' , qui est nécessaire pour le calcul ultérieur de ϵ_{Br} , n'est cependant pas toujours possible quelle que soit la quantité d'ions Cl^- présents dans la solution. C'est ainsi qu'il est nécessaire de consommer un volume «mort» de nitrate d'argent 0,002 N atteignant 2 ml pour élever la f. e. m. d'une cellule contenant exclusivement des ions Br^- de la valeur $(E_{Br})_e$ des conditions d'équivalence du brome à la valeur $(E_{Cl})_e$ des conditions d'équivalence du chlore malgré l'absence de cet élément. La même observation est d'ailleurs également valable pour tous les mélanges brome-chlore caractérisés par une valeur de v inférieure à 2 ml.

La possibilité d'application de la méthode abrégée de microdosage du brome en présence de chlore implique donc la présence nécessaire dans la solution à titrer d'une quantité minimum de chlore équivalente à 2 ml de réactif titrant 0,002 N.

L'emploi de cette méthode est en outre handicapé dans les titrages en série par la nécessité de reformer l'électrode d'argent après chaque détermination avant d'effectuer le microdosage des ions Br^- dans la suivante*.

* la précipitation de chlorure d'argent dans la dernière partie du titrage altère en effet la formation primitive de l'électrode (cf. paragraphe «Electrode d'argent»).

L'avantage de la prise d'essai unique présente donc en contrepartie quelques inconvénients dont ne souffre pas la précédente méthode.

V. Résultats et conclusions.

A. Microdosages du chlore et du brome dans leurs mélanges.

De multiples microdosages du chlore et du brome effectués sur des mélanges synthétiques de produits organiques chlorés et bromés nous ont permis d'établir que la méthode d'argentométrie par potentiels repérés fournit des résultats sensiblement aussi précis que dans le cas des composés comportant un seul halogène¹⁴, lorsqu'elle est couplée avec la minéralisation de la matière organique par le peroxyde de sodium. Les limites de l'erreur absolue moyenne sont en effet d'environ $\pm 0,15\%$.

Tableau II.

Feuille de calcul des microdosages du chlore et du brome dans le dibromodiphényltrichloroéthane.

v_1 mg	q ml	q/v_1^*								
4,018	4,53	1,1275	$\Sigma v_1 = 13,154$ $\Sigma q = 14,83$ $s = 5 \frac{\Sigma q}{\Sigma v_1} v_2 \text{ ml}$	$5 \frac{\Sigma q}{\Sigma v_1} = 5,637$						
4,466	5,03	1,1262								
4,670	5,27	1,1284								
v_2 mg	s ml	v' ml	$(s-v')$ ml	ϵ ml	$(u-\epsilon_{-1})$ ml	$(v+\epsilon_{-1})$ ml	Brome %		Chlore %	
							calculé	trouvé	calculé	trouvé
2,230	12,57	5,44	7,13	0,397	5,043	7,527	36,04	36,14	23,99	23,93
2,485	14,01	6,05	7,96	0,462	5,588	8,422		35,94		24,03
4,115	23,20	10,12	13,08	**0,919	9,201	13,996		35,73		24,12

* le calcul des rapports q/v_1 , a pour but de contrôler la concordance des différentes déterminations effectuées sur la somme des halogènes.

** calculé par extrapolation de la formule 2 (cf. tableau 2).

pour le brome et $\pm 0,20\%$ pour le chlore lorsque ces deux éléments sont dosés d'après le mode opératoire général comportant deux prises d'essais distinctes.

Nous donnons à titre d'exemple les résultats des microdosages du chlore et du brome sur le dibromodiphényltrichloroéthane pour corroborer cette conclusion; ils sont réunis dans le tableau II qui a été d'ailleurs mis à profit pour montrer comment il est possible de conduire les calculs d'une analyse comportant des déterminations multiples des volumes q et u' .

Les erreurs absolues commises sur la détermination des teneurs centésimales de chaque élément sont de:

+ 0,10; - 0,10; et - 0,31 pour le brome
et de: - 0,06; + 0,04; et + 0,13 pour le chlore;
leurs moyennes sont bien comprises entre les limites annoncées.

B. *Microdosage du brome en présence de chlore sur une seule prise d'essai.*

Nous avons reporté dans le tableau III un exemple de dosages du brome en présence de chlore, effectués sur prises d'essais uniques de dibromodiphényltrichloroéthane.

Tableau III.
Microdosage du brome dans le dibromodiphényltrichloroéthane avec déterminations de u' et de v' sur une prise d'essai unique.

μ_2 mg	u' ml	s (ml)		v' ($s - u'$) ml	ϵ_{Br} ml	$(u' - \epsilon_{Br})$ ml	Brome %	
		trouvé	calculé				calculé	trouvé
2,202	5,32	12,60	12,41	7,28	0,40	4,92	36,04	35,71
2,174	5,27	12,24	12,25	6,97	0,382	4,89		35,95
2,253	5,49	13,11	12,70	7,62	0,42	5,07		35,97

L'examen de ce tableau montre que dans le cas particulier considéré les résultats des microdosages du brome sont aussi précis que les précédents (tableau II) bien que les erreurs commises sur v atteignent respectivement + 0,19 ml, - 0,01 ml et + 0,41 ml pour chacune des trois déterminations effectuées. La méthode abrégée de dosage de brome en présence de chlore présente donc également un intérêt certain, sous réserve de respecter les conditions étudiées lors de la description du mode opératoire.

Résumé.

La méthode antérieurement décrite de microdosage du chlore ou du brome par argentométrie par potentiels repérés couplée à la minéralisation préalable des composés organiques par le peroxyde de sodium a été étendue au cas de la présence simultanée des deux halogènes.

Elle comporte alors, en général, deux déterminations effectuées sur deux prises d'essais distinctes pesant respectivement μ_1 et μ_2 mg.

La première est effectuée sur la prise d'essai μ_1 (environ 5 mg) avec du nitrate d'argent 0,01 N; elle fournit le volume q ml de réactif équivalent à la somme des deux halogènes; le point final de titrage est déterminé par repérage du potentiel d'une électrode d'argent dans les conditions d'équivalence du microdosage du chlore.

La seconde est effectuée sur la prise d'essai μ_2 (environ 2 à 3 mg) avec du nitrate d'argent 0,002 N; elle fournit le volume u' non corrigé de réactif équivalent au brome; le point final de titrage est déterminé par repérage du potentiel d'une électrode d'argent dans les conditions d'équivalence du microdosage du brome seul.

Le volume v' non corrigé de réactif 0,002 N équivalent au chlore, dans la prise μ_2 est fourni par l'égalité:

$$v' = \left(5 \frac{\mu_2}{\mu_1} q - u' \right) \text{ ml.}$$

On obtient les volumes u et v de réactif 0,002 N réellement équivalents au brome et au chlore contenus dans la prise μ_2 d'après les relations

$$u = (u' - \epsilon_{Br}) \text{ ml} \quad (v = v' + \epsilon_{Br}) \text{ ml.}$$

ϵ_{Br} est une correction qui dépend de la masse de peroxyde de sodium employée (3 grammes), de la nature de l'acide utilisé pour la neutralisation et l'acidification de la solution (acide sulfurique) et du volume final de titrage du brome (200 ml). Dans le cas le plus général [$0,5 \leq u \leq 10 \text{ ml} - 1 \leq v \leq 10 \text{ ml}$] ϵ_{Br} peut se calculer d'après l'équation empirique suivante:

$$\epsilon_{Br} = \frac{(0,072 v' + 0,144) \log_{10} (3 + u') - (0,02 v' + 0,088)}{1,02 - 0,072 \log_{10} (3 + u')}$$

qui est d'ailleurs susceptible d'être extrapolée dans certains domaines limitrophes.

Les teneurs en chlore et en brome cherchées s'obtiennent à partir des formules:

$$\text{Br \%} = \frac{15,9832 u}{\mu_2} \quad \text{Cl \%} = \frac{7,0917 v}{\mu_2}$$

La précision des résultats est comparable à celle que l'on obtient pour chacun des halogènes seuls; l'erreur absolue moyenne est de l'ordre de grandeur de $\pm 0,15\%$ pour le brome et de $\pm 0,20\%$ pour le chlore.

Zusammenfassung.

Die seinerzeit beschriebene Methode zur Mikrobestimmung von Chlor und Brom durch potentiometrische Titration mit Silbernitrat nach vorhergehender Zerstörung des organischen Materials mit Natriumperoxyd wurde für die gleichzeitige Anwesenheit der beiden Halogene erweitert.

Das hier beschriebene Verfahren beinhaltet zwei Bestimmungen in zwei Einwaagen vom Gewicht μ_1 bzw. μ_2 mg. Die erste Bestimmung, ausgeführt mit einer Einwaage von etwa 5 mg, ergibt ein Volumen von q ml der verbrauchten 0,01-n Silbernitratlösung, das der Summe der beiden Halogene äquivalent ist. Der Endpunkt der Titration wird durch Einstellung des Potentials einer Silberelektrode erhalten, das den Bedingungen der Chlor-mikrobestimmung entspricht. Die zweite Bestimmung, ausgeführt mit einer Einwaage von etwa 2 bis 3 mg, ergibt das nicht korrigierte Volumen u' an 0,002-n Silbernitratlösung, das dem Bromgehalt äquivalent ist. Der Endpunkt der Titration wird durch Einstellung des Potentials einer Silberelektrode erhalten, das den Bedingungen der Mikrobestimmung von Brom allein entspricht. Das nicht korrigierte Volumen v der 0,002-n Maßlösung, das dem Chlorgehalt der zweiten Einwaage entspricht, ergibt sich aus der Gleichung:

$$v' = \left(5 \cdot \frac{\mu_2}{\mu_1} \cdot q - u' \right) \text{ ml.}$$

Die Volumina u und v der 0,002-n Maßlösung, die dem Brom- bzw. Chlorgehalt in der Einwaage μ_2 tatsächlich äquivalent sind, erhält man aus den Beziehungen:

$$u = (u' - \epsilon_{Br}) \text{ ml} \quad \text{und} \quad v = (v' + \epsilon_{Br}) \text{ ml.}$$

ϵ_{Br} ist eine von der verwendeten Menge Natriumperoxyd (3 g), von der Art der zur Neutralisation und zum Ansäuern verwendeten Säure (H_2SO_4) und vom Endvolumen der Lösung bei der Bromtitration (200 ml) abhängige Korrekturgröße.

Im allgemeinsten Fall läßt sich ϵ_{Br} ($0,5 \leq u \leq 10 \text{ ml} - 1 \leq v \leq 10 \text{ ml}$) aus folgender empirischer Gleichung errechnen.

$$\epsilon_{Br} = \frac{(0,072 v' + 0,144) \log_{10} (3 + u') - (0,02 v' + 0,088)}{1,02 - 0,072 \log_{10} (3 + u')}$$

Diese kann man im übrigen in bestimmten Grenzfällen extrapolieren.

Der gesuchte Gehalt an Chlor und Brom ergibt sich aus den Gleichungen:

$$\text{Br \%} = \frac{15,9832 u}{\mu_2} \quad \text{Cl \%} = \frac{7,0917 v}{\mu_2}$$

Die Genauigkeit der Resultate ist jener vergleichbar, die man für Chlor oder Brom allein erhält. Der mittlere absolute Fehler ist für Br von der Größenordnung $\pm 0,15\%$, für Chlor $\pm 0,20\%$.

Summary.

The method previously described for the microdetermination of chlorine and bromine by argentometry by reference potentials combined with preliminary mineralization or organic compounds by means of sodium peroxide has been extended to the case in which both halogens are present. The method in general involves two determinations conducted on two separate samples weighing respectively μ_1 and μ_2 mg.

The first is made on the sample μ_1 (about 5 mg) with silver nitrate (0.1 N). It gives the volume q ml of reagent that is equivalent to the sum of the two halogens. The endpoint of the titration is determined by reference to the potential of a silver electrode under the equivalence conditions of the microdetermination of chlorine.

The second titration is made with the sample μ_2 (about 2 to 3 mg) with 0.002 N silver nitrate. It gives the volume u' (*uncorrected*) of reagent equivalent to the bromine. The endpoint is determined by reference to the potential of a silver electrode under the equivalent conditions of the microdetermination of bromine alone.

The volume v' (*uncorrected*) of reagent (0.002 N) equivalent to the chlorine in the sample μ_1 is given by the expression:

$$v' = \left(5 \frac{\mu_1}{\mu_2} q - u' \right) \text{ ml.}$$

The volumes of 0.002 N reagent, u and v , actually equivalent to the bromine and chlorine contained in the sample μ_2 are obtained from the relations:

$$u = (u' - E_{Br}) \text{ ml} \quad v = (v' + E_{Br}) \text{ ml.}$$

E_{Br} is the correction to be applied. Its value depends on the amount of sodium peroxide used (3 grams), the nature of the acid used for the neutralization and acidification of the solution (sulfuric acid), and the final volume in which the bromine is titrated (200 ml). In the most general case [$0.5 < u < 10$ ml - $1 < v < 10$ ml] E_{Br} can be calculated from the empirical equation:

$$E_{Br} = \frac{(0.072 v' + 0.144) \log_{10}(3 + u') - (0.02v' + 0.088)}{1.02 - 0.072 \log_{10}(3 + u')}$$

This expression is capable of extrapolation in to certain neighboring regions.

The content of chlorine and of bromine desired are obtained by means of the expressions:

$$\% \text{ Br} = \frac{15.9832 u}{\mu_2} \quad \% \text{ Cl} = \frac{7.0917 v}{\mu_2}$$

The precision of the results is comparable to that obtained from separate determinations of the halogens. The mean absolute error is of the order of $\pm 0.15\%$ for bromine and $\pm 0.20\%$ for chlorine.

Bibliographie.

- ¹ J. F. Alicino, A. Crickenberger et B. Reynolds, *Analyt. Chemistry* **21**, 755 (1949).
- ² R. Belcher et G. Ingram, *Analyt. Chim. Acta* **7**, 319 (1952).
- ³ G. Charlot et D. Bezier, *Méthodes modernes d'analyse quantitative minérale*, Paris: Masson, 1945, p. 117.
- ⁴ H. Chateau et J. Pouradier, *C. r. acad. sci.*, Paris **234**, 623 (1952).
- ⁵ W. Clark, *J. Chem. Soc. London (Transactions)* **1926**, 749.
- ⁶ H. Flood, *Z. anorg. Chem.* **229**, 76 (1936).
- ⁷ H. Flood et B. Bruun, *Z. anorg. Chem.* **229**, 85 (1936).
- ⁸ H. Flood et E. Sletten, *Z. analyt. Chem.* **115**, 30 (1938/39).
- ⁹ G. Ingram, *Mikrochem.* **36/37**, 690 (1951).
- ¹⁰ G. Kainz, *Mikrochem.* **38**, 124 (1951).
- ¹¹ G. Kainz et A. Resch, *Mikrochem.* **39**, 292 (1952).
- ¹² I. M. Kolthoff et E. T. Eggersten, *J. Amer. Chem. Soc.* **61**, 1036 (1939).
- ¹³ F. W. Küster, *Z. anorg. Chem.* **19**, 81 (1899).
- ¹⁴ R. Lévy, *Mikrochem.* **36/37**, 741 (1951).
- ¹⁵ R. Lévy, *C. r. acad. sci.*, Paris **235**, 882 (1952).
- ¹⁶ R. Lévy, *Bull. soc. chim. France* **1952**, 672.
- ¹⁷ R. Lévy, en cours de publication.
- ¹⁸ F. Martin, *Mikrochem.* **36/37**, 52 (1951).
- ¹⁹ E. Müller, *Die elektrometrische (potentiometrische) Maßanalyse*, 6ème ed. Leipzig: Steinkopff, p. 120.
- ²⁰ J. H. Northrop, *J. Gen. Physiol.* **31**, 213 (1948).
- ²¹ J. Pinkhof, *Dissertation*, Amsterdam 1919.
- ²² M. B. Shchigol, *Zavodskaya Lab.* **15**, 523 (1949).
- ²³ A. Thiel, *Z. anorg. Chem.* **24**, 1 (1900).
- ²⁴ L. M. White et M. D. Kilpatrick, *Analyt. Chemistry* **22**, 1049 (1950).
- ²⁵ F. P. W. Winteringham, R. G. Bridges et A. Harrison, *J. Science of Food and Agriculture* **1**, 185 (1950).
- ²⁶ B. Wurzschnitt, *Chem.-Ztg.* **74**, 356 (1950); *Mikrochem.* **36/37**, 769 (1951).
- ²⁷ M. C. Yutzy et I. M. Kolthoff, *J. Amer. Chem. Soc.* **59**, 916 (1937).

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/30.

Zeilenanzahl: 527.

Aus dem Institut für anorganische und analytische Chemie und dem Institut für Mikroanalyse der Technischen Hochschule (Technical University) Wien.

Die Ringofenmethode.

Ein Beitrag zur Tüpfelanalyse.

Von

Herbert Weisz.

Mit 4 Abbildungen.

(Eingelangt am 20. März 1955)

Einer der wichtigsten Schritte bei der Durchführung qualitativer und quantitativer Analysen ist die Trennung der Substanzen in zwei oder mehrere Gruppen. Dabei ist entscheidend, daß nur solche Substanzen in ein und dieselbe Gruppe gelangen, die die beabsichtigten Reaktionen nicht stören.

Besonders wenn auf die Anwesenheit einer größeren Zahl von Substanzen qualitativ zu prüfen oder wenn dieselben gar quantitativ zu bestimmen sind, macht sich der Mangel an Untersuchungssubstanz unangenehm fühlbar. Wollte man etwa in einem Tropfen von 1 μ l Trennungen durchführen, so dürfte dies mit den üblichen analytischen Methoden der Fällung und Filtration wohl kaum möglich sein.

Es liegt nahe, den Tropfen auf Filterpapier aufzubringen, das Fällungsreagens für eine Gruppe von Substanzen einwirken zu lassen und sie so auf dem Papier zu fixieren. Unter Ausnützung der Kapillarität des Filterpapiers können die ungefällt gebliebenen Anteile mit einem geeigneten Lösungsmittel aus dem fixierten Niederschlag in die äußere Zone des Filterpapiers hinausgewaschen werden. Dieser Vorgang sei an einem Modellbeispiel erläutert: Wir hätten in einem Tropfen, auf Papier aufgebracht, Kupfer und Eisen und es seien beide mit Kaliumferrozyanid nachzuweisen. Dazu ist natürlich eine Trennung nötig. Es ist möglich, entweder das Kupfer mit Schwefelwasserstoff oder das Eisen mit Ammoniak zu fixieren und das zweite Metallion mit einem geeigneten Lösungsmittel in die äußeren Teile des Filterpapiers zu waschen. Hier nun beginnt die Schwierigkeit: Wäscht man mit wenig Flüssigkeit, z. B. mit einem oder zwei Tropfen, dann ist natürlich die Trennung keineswegs vollständig; wäscht man aber so lange, bis beispielsweise alles Eisen aus dem Kupfersulfidfleck entfernt ist, dann erhalten wir einen großen unregelmäßigen Fleck rund um das Kupfersulfid, in dem das Eisen sehr stark verdünnt ist. Trotz dieser Schwierigkeit ist diese Methode in manchen Fällen angewandt worden — etwa bei der Barium-Strontium-Trennung mit Kaliumchromat.

Um diese Technik allgemein anwendbar zu machen, mußte eine Methode entwickelt werden, ungefällt gebliebene Anteile aus einem auf Papier fixierten Niederschlag quantitativ zu entfernen, ohne daß die Fläche des Fleckes größer wird, ohne daß also die Konzentration des ausgewaschenen Ions geringer wird. Diesen Zwecken dient ein als Ringofen bezeichnetes Gerät; dieses ermöglicht lösliche Substanzen mit beliebig großen Lösungsmittelmengen auszuwaschen und diese gelösten Anteile an einer vorher bestimmten Stelle zu sammeln. Ein zylindrischer Aluminiumblock (Abb. 1) hat in der Mitte eine durchgehende Bohrung von 22 mm lichter Weite. In diesem Heizblock befindet sich in einer ringförmigen Nut eine elektrische Heizwicklung. Zur Temperatureinstellung dient ein regelbarer Widerstand. Die Temperatur an der Blockoberfläche beträgt annähernd 105° C. Das Glasröhrchen *Gl*, das mit Hilfe der Schrauben *S*₁ und *S*₂ verstellbar ist, dient als Führung für eine Kapillar-

pipette. Es muß senkrecht stehen und genau auf die Mitte der Bohrung weisen. Die Wirkungsweise des Ringofens sei an einem Modellbeispiel erläutert:

In die Mitte eines Rundfilters (ich verwende Sch. u. Sch. 589¹ oder 589², 5,5 cm Durchmesser) wird 1 Tropfen einer Eisen-III-chloridlösung aufgebracht (1:10.000). Das Filter wird so auf den heißen Ringofen gelegt, daß der Tüpfelfleck gerade unter das Glasröhrchen zu liegen kommt. Ein Porzellanring wird zur Fixierung des Filters aufgelegt. Dann wird der Tüpfelfleck mittels der Kapillarpipette mit 0,1-n Salzsäure ausgewaschen. Man füllt die Kapillarpipette durch einfaches Eintauchen in das Lösungsmittel. Die Kapillare wird nun durch das Glasröhrchen *Gl* hindurch auf den Tüpfelfleck aufgesetzt. Das Filterpapier saugt das Lösungsmittel nach, der Tüpfelfleck wächst konzentrisch nach außen. Die Pipette wird frisch gefüllt und wieder aufgesetzt. Der Durchmesser des Tüpfelfleckes kann nicht größer werden als der Durchmesser der Bohrung, hier also 22 mm. An der heißen Oberfläche des Ofens verdunstet das Lösungsmittel und die gelösten Anteile bleiben in einer scharf ausgebildeten Ringzone zurück. Nach etwa 5- bis 10maligem Auswaschen befindet sich alles Eisen quantitativ in der Ringzone. Es kann immer nur so viel Lösungsmittel aus der Pipette ausfließen, als das Papier nachsaugen kann. Daher braucht man den Zufluß nicht zu regulieren. Das Filter wird im Trockenschrank getrocknet und dann mit einer Lösung von Kaliumferrocyanid besprüht oder in einer Schale gebadet. Es entsteht ein scharfer Ring von Berlinerblau. Abb. 2 zeigt einen solchen Ring, hergestellt aus einem Tropfen mit 0,5 µg Eisen. Die Fläche des Ringes von der Dicke eines Bleistiftstriches ist nicht größer als die eines üblichen Tüpfelfleckes. Selbst bei einer Ringbreite von 1 mm beträgt die Fläche des Ringes ($2\pi \cdot l$) weniger als 70 mm²; sie ist also kleiner als ein Tüpfelfleck von 10 mm Durchmesser. Da aber die Ringzone bei den in der Mikroanalyse üblichen Konzentrationen wesentlich schmaler ist — 0,1 bis 0,3 mm —, bleibt die Fläche des Kreisringes noch weit kleiner. Das bedeutet, daß im Kreisring die Konzentration der Ionen sogar größer ist als im ursprünglichen Tüpfelfleck. Die meisten Reaktionen gelingen daher auch in dieser Ringform deutlicher als in einem Tüpfelfleck. Wollte man etwa in dieser Ringzone auf mehrere Ionen prüfen, die mit dem angewandten Lösungsmittel wandern, so teilt man nach dem Trocknen das Filter mit einer Schere in so viele Sektoren, als man Nachweisreaktionen anstellen beabsichtigt. Bei einem Umfang von etwa 70 mm ist die Teilung in mehr als 10 Sektoren durchaus möglich. Nach dem Entwickeln mit den entsprechenden Reagenzien erhält man auf den einzelnen Filterpapiersektoren Kreisbogen der entsprechenden Länge. Bei der Ausführung der einzelnen Nachweise ist darauf Bedacht zu nehmen, daß die in einer scharfen Zone gesammelten Substanzen nicht durch aufgebrauchte Reagenzien verwaschen werden, da dies natürlich die Empfindlichkeit herabsetzen würde. Über die Empfindlichkeit so durchgeführter Tüpfelnachweise läßt sich folgendes aussagen: Wenn die Konzentration eines Ions in einem Probetropfen für eine übliche Tüpfelreaktion ausreicht, so läßt sich auch nach dem Auswaschen in einem nur aliquoten Teil der Ringzone der Nachweis führen. Einige Beispiele sollen die Anwendbarkeit dieser Methode erläutern:

1. Wenn in einem Probetropfen auf mehrere Ionen geprüft werden soll, ohne eine Trennung durchzuführen, ist es von Vorteil, diesen Tropfen in eine Ringzone auszuwaschen und dann das Rundfilter in mehrere Teile zu zerschneiden. Auf den einzelnen Sektoren können dann leicht die entsprechenden Nachweisreaktionen ausgeführt werden. Dasselbe gilt natürlich auch für den Fall, daß nur ein Tropfen zur Verfügung steht, in dem auf nur ein Ion, aber mit mehreren Reaktionen geprüft werden soll. Man hat so praktisch eine Unterteilung des *einen* zur Verfügung stehenden Tropfens erreicht, ohne verdünnen zu müssen.

2. Soll aber eine Trennung durchgeführt werden, dann muß ein Teil der Ionen lokal fixiert werden; dann erst werden die übrigen Ionen in die Ringzone ausgewaschen. Ein Tropfen enthält z. B. Kupfer, Eisen und Nickel. Das Kupfer wird mit Schwefelwasserstoff gefällt. Das Eisen und Nickel kann dann in die Ringzone gewaschen werden. Zur Fixierung

verwendet man mit Vorteil gasförmige Reagenzien, da dann ein Verwaschen vermieden wird. Zur bequemeren Durchführung solcher Fällungen auf Papier benütze ich einen Glasapparat, den Abb. 3 zeigt: Ein 50-ml-Weithalskolben ist mit einem doppelt durchbohrten Gummistopfen verschlossen. Durch eine Bohrung führt der Tropftrichter *T*, die zweite Bohrung trägt ein Glasrohr *U* mit 10 mm breitem Planschliff. Darauf sitzt ein gleich ausgebildetes Rohr *O*, dessen Ansatz über den Hahn H_2 zur Wasserstrahlpumpe führt. Im Rohr *U* befindet sich ein Wattebüschchen, um eventuell mit dem Luftstrom mitgerissene Flüssigkeitströpfchen zurückzuhalten. Die beiden Schliffflächen werden durch zwei Spiralfedern *S* aneinandergepreßt.

Der Probetropfen wird in die Mitte eines Rundfilters aufgebracht. In den Kolben kommt Zinksulfid, in den Tropftrichter Schwefelsäure (1:1). Das Filter mit dem Probetropfen wird zwischen die Schliffflächen des Apparates eingeschoben; dazu ist es nicht nötig, den Apparat auseinanderzunehmen, der Helmaufsatz *O* braucht nur leicht nach oben angehoben zu werden und das Filter kann dann in den Spalt zwischen den Schliffflächen leicht eingeschoben werden. Durch Drehung der entsprechenden Hähne und Öffnen der Wasserstrahlpumpe wird ein Schwefelwasserstoffstrom durch das Filterpapier gesaugt und so alles Kupfer gefällt. Bei größeren Konzentrationen des zu fällenden Ions bringt man einen Tropfen Alkohol auf und wiederholt die Fällung mit Schwefelwasserstoff, um sicher alles Fällbare niederzuschlagen. Sodann wird das Filter auf den Ringofen aufgelegt und mit 0,1-n Salzsäure alles Eisen und Nickel in die Ringzone ausgewaschen. Nach dem Trocknen wird das in der Mitte als Sulfid fixierte Kupfer vom Filter abgetrennt. Dies geschieht am besten mit einem Locheisen von 12 mm Durchmesser. Nachher wird der Ring mit einer Schere zerteilt, das Eisen mit Kaliumferrocyanid, das Nickel mit Dimethylglyoxim nachgewiesen. Das Kupfersulfid kann oxydiert werden — wieder am besten mit gasförmigen Reagenzien, z. B. Bromdampf. Das Kupfer wird dann in üblicher Weise nachgewiesen (Benzoinoxim).

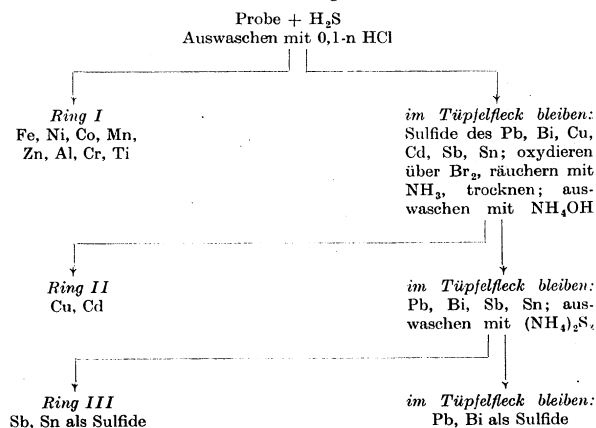
3. Es ist aber auch möglich, in mehr als zwei Gruppen zu unterteilen. In einem Tropfen sind z. B. Blei, Antimon, Eisen und Nickel enthalten. Der Tropfen wird mit Schwefelwasserstoff behandelt. Dadurch wird alles Blei und Antimon als Sulfid fixiert. Nickel und Eisen werden auf dem Ofen in die Ringzone ausgewaschen. Nach dem Trocknen wird das Filterscheibchen ausgestanzt, das Eisen und Nickel wie üblich nachgewiesen. Das Filterscheibchen mit Blei und Antimon wird auf ein neues Rundfilter aufgelegt und dieses Rundfilter zusammen mit dem Scheibchen auf den Ringofen aufgebracht. Sodann wird mit gelbem Schwefelammonium ausgewaschen. Alles Antimonsulfid wird gelöst, in das darunterliegende Filter hineingesaugt und dort wieder in der Ringzone konzentriert. Scheibchen und Filter werden getrocknet. Das kleine Scheibchen enthält nunmehr alles Blei als Sulfid, das zu Sulfat oxydiert und in üblicher Weise nachgewiesen werden kann. Der Kreisring enthält alles Antimon nach dem Trocknen wieder als Sulfid. Das Filter kann wenn nötig in mehrere Sektoren zerteilt werden, auf denen die einzelnen Ionen dieser Gruppe nachgewiesen werden können.

Da Fällungsmittel und Lösungsmittel variiert und mit den einzelnen Trennungsoptionen in mannigfaltiger Art kombiniert werden können, ist es möglich, eine größere Zahl von Ionen in einem einzigen Tropfen in mehrere Gruppen zu trennen und dann nachzuweisen. Namentlich für spezielle Zwecke lassen sich mit dieser Methode geeignete Analysengänge entwickeln. Für allgemeinere Zwecke wurde ein solcher Trennungsgang ausgearbeitet, der folgende Ionen berücksichtigt: Pb, Bi, Cu, Cd, Sn, Sb, Fe, Ni, Co, Mn, Cr, Al, Zn, Ti. Der nicht zu stark salzsaure Probetropfen (höchstens 2-n) wird mittels einer Kapillarpipette auf das Filter aufgetragen. Wir wenden zumeist 1,5 μ l an. Die Kapillarpipette (Abb. 4a) faßt etwa 1,5 μ l. Die Kapillare ist kürzer als die Steighöhe üblicher wäßriger Lösungen in ihr; daher kann sie durch bloßes Eintauchen mühelos gefüllt werden.

Hierauf wird mit Schwefelwasserstoff in der Glasapparatur alles Blei, Wismut, Kupfer, Cadmium, Zinn und Antimon gefällt. Dann wird das

Filter auf den Ringofen aufgelegt und in der früher geschilderten Weise mit 0,1-n Salzsäure alles Lösliche in die Ringzone ausgewaschen. Nach dem Trocknen im Trockenschrank wird der Tüpfelfleck ausgestanzt. Das Scheibchen enthält alles Blei, Wismut, Kupfer, Cadmium, Zinn und Antimon als Sulfide. Das restliche Filter in einer scharfen Ringzone konzentriert alles Eisen, Kobalt, Nickel, Chrom, Mangan, Zink, Aluminium und Titan (Ring I). Die Ionen dieser Gruppe müssen nicht mehr weiter getrennt werden, da alle an dieser Stelle vorkommenden Ionen eindeutig zu identifizieren sind. Das ausgestanzte kleine Filterscheibchen wird mit einem Tropfen Alkohol benetzt und mit Bromdampf oxydiert. Nach etwa 1 Minute räuchert man gründlich über Ammoniak. Dies kann mehrmals wiederholt werden. Zur leichteren Handhabung bedient man sich des Scheibchenhalters (Abb. 4b). Das Filterscheibchen wird im Trockenschrank getrocknet, um Zinn und Antimon sicher zu fixieren, da vor allem das Zinnhydroxyd in so feiner Verteilung ausfällt, daß ein Teil davon bei der nachfolgenden Extraktion mit Ammoniak mitwandern könnte. Das Scheibchen enthält nunmehr alles Blei als Bleisulfat, Kupfer und Cadmium als Tetramminkomplex, Antimon und Zinn als Hydroxyde und Wismut vermutlich als basisches Sulfat. Nach dem Trocknen wird das Filterscheibchen auf ein neues Rundfilter aufgelegt und auf dem Ringofen mit Ammoniak alles Kupfer und Cadmium in die Ringzone des darunterliegenden Rundfilters gebracht. Das Filter enthält nunmehr in einer scharfen Ringzone alles Kupfer und Cadmium (Ring II). Das Filterscheibchen, auf dem alles Blei, Wismut, Zinn und Antimon im ursprünglichen Tüpfelfleck vorhanden ist, wird abermals auf ein neues Rundfilter aufgelegt, auf den Ringofen gebracht und mit gelbem Schwefelammonium alles Zinn und Antimon in die Ringzone (Ring III) gewaschen. Das Filterscheibchen enthält sodann alles Blei und Wismut wieder als Sulfide. Nunmehr sind alle Ionen in solche Gruppen geteilt worden, daß deren Bestimmung nebeneinander möglich ist. Tabelle 1 zeigt in übersichtlicher Form das Trennungsschema.

Tabelle I. Trennungsschema.



Die Nachweisreaktionen sollen alle auf dem Papier ohne Extraktion durchgeführt werden, und zwar so, daß die in einer schmalen Zone gesammelten Ionen nicht wieder verwaschen werden. Daher können nur solche Reaktionen Anwendung finden, die sehr rasch gefärbte, unlösliche Niederschläge als Reaktionsprodukte liefern. Dies ist in fast allen Fällen gelungen, nur für das Antimon war ein direkter Nachweis auf Papier mit genügender Sicherheit nicht anzugeben (siehe Tabelle 2). Selbstverständlich aber ist die Auswahl der Nachweisreaktionen aus der durch die gegebenen Erfordernisse und Tatsachen beschränkten Zahl von Möglichkeiten eine rein subjektive. In manchen Fällen mußten die Reaktionen in geänderter Form durchgeführt werden, um den Anforderungen zu genügen. Tabelle 2 gibt einen Überblick über die zur Verwendung gelangen-

den Reaktionen.

Tabelle 2. Nachweisreaktionen.

Ort	Ion	Vorbehandlung	Reaktion	Farbe
Scheibchen oxydieren	Pb	über NH_3	+ Natriumrhodizonat über HCl	blau-violett-rot
	Bi	auf Platte + H_2O_2	+ PbCl_2 + Na_2SnO_2 + + NaOH	schwarz
Ring III zerschnei- den	Sn	H_2O_2 + NH_3	+ Morin, baden in alkohol. CH_3COOH	im UV gelbgrün
	Sb	auf Platte + HCl (1:1)	+ KJ, SO_3^{--} , Rhodamin B	blauviolett
Ring II zerschnei- den	Cu	über NH_3	+ Rubeanwasserstoffsäure	olivgrün bis schwarz
	Cd		+ S^{--} , + KCN, waschen, + AgNO_3	schwarz
Ring I zerschnei- den	Fe	über HCl über Br_2	+ $\text{K}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]$	blau
	Co	über NH_3	+ Na_2HPO_4 + α -Nitroso- β -Naphthol	braunrot
	Ni	über NH_3	+ Dimethylglyoxim	rot
	Cr	H_2O_2 + NH_3	+ Diphenylcarbazid	violett
	Mn		+ $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ + NH_4OH	schwarz
			+ 0,05-n NaOH + Benzidin	blau
	Zn		+ $(\text{NH}_4)_2[\text{Hg}(\text{CNS})_4]$, in Co^{++} (0,02%)	blau
	Al		+ Morin, baden in 2-n HCl	im UV lichtgrün
	Ti		+ Chromotropsäure	rotbraun

Über die zur Analyse benötigte Problemengröße läßt sich sagen, daß von jedem Ion mindestens soviel im Probetropfen enthalten sein muß, als nötig wäre, um einen Nachweis auf dieses entsprechende Ion allein zu führen. Daraus folgt, daß es nicht mehr die Trennungsoptionen sind, die die erforderliche Problemengröße bestimmen, sondern die Erfassungsgrenzen der einzelnen Ionen.

Der Ringofen als Extraktionsapparat.

Der Ringofen kann auch dazu dienen, auf einfache Weise Extraktionen von kleinsten Problemengrößen durchzuführen. Über die Extraktion von Lösungen ist wohl kaum etwas zu sagen. Das Extraktionsgut wird wie vorher der Probetropfen aufgebracht und mit einem geeigneten Extraktionsmittel in die Ringzone ausgewaschen. Für die Extraktion fester Stoffe wird mittels eines dicken abgerundeten Glasstabes in die Mitte eines eventuell angefeuchteten Filterpapiere eine Vertiefung gepreßt, die dann die zu extrahierende Probe aufnehmen soll. Nach oben hin wird mit einem kleinen Filterscheibchen abgedeckt. Der in Lösung gegangene Anteil wird in einer scharfen Ringzone konzentriert und kann dort leicht nachgewiesen werden, vorausgesetzt natürlich, daß geeignete Nachweisreaktionen mit genügender Empfindlichkeit zur Verfügung stehen.

Semiquantitative Bestimmungen mit dem Ringofen.

Da der Ringofen die Anreicherung von Substanzen in Form von scharfen, wohldefinierten Ringen erlaubt, ist es möglich, durch Vergleich der Intensität dieser Ringe mit Standardringen eine Schätzung der Konzentration und somit eine zumindest semiquantitative Analyse durchzuführen. Dadurch, daß es möglich ist, mehrere Tropfen aufzubringen und an einer Stelle zu konzentrieren, kann man mit sehr verdünnten Lösungen arbeiten. Die entstehende Ringzone ist von der Zahl der Probetropfen weitgehend unabhängig immer gleich groß. Daher kann man mehrere Kreisringe mit verschiedener Anzahl von Tropfen herstellen und mit einer Testskala vergleichen, wodurch naturgemäß die Fehler,

die der Farbvergleich bei der Tüpfelkolorimetrie mit sich bringt, verringert werden. Voraussetzung ist, daß die Tropfen immer gleich groß sind. Dies wird aber mittels der kleinen Kapillarpipette (Abb. 4a) ohne weiteres erreicht. Der Farbvergleich kann durch direkte Beobachtung erfolgen. Es ist günstig, die Filter eventuell mit Paraffinöl zu befeuchten; dadurch werden die Farben deutlicher sichtbar, besonders wenn man von unten durchleuchtet. Sehr gut ist es auch, den Vergleich durch epidiaskopische Projektion vorzunehmen: Standardskala und Probering werden gleichzeitig projiziert. Die Ausmessung der Ringbreite zeigte keine günstigen Resultate. Wenn man Reaktionen anwendet, die haltbare Reaktionsprodukte liefern, kann die Standardskala längere Zeit aufbewahrt werden.

Zur Herstellung der Standardskala wird nur eine einzige Standardlösung benötigt, da sich auch die Standardringe nur durch die Anzahl der Tropfen, aus denen sie entwickelt wurden, unterscheiden. Auch die Größe der Tropfen ist nicht wesentlich, vorausgesetzt daß sie in allen Fällen das gleiche Volumen haben. Ich arbeite auch hier mit etwa 1,5 µl Tropfengröße.

Da bei der Tüpfelkolorimetrie wie bei jeder Art von Kolorimetrie überhaupt die Farbunterschiede nur innerhalb eines gewissen Bereiches genügend groß und damit brauchbar sind, ist die Wahl der Konzentration der Standardlösung von Bedeutung. Diese hängt ab:

1. Von der anzuwendenden Reaktion.
2. Von der Tropfengröße.

Die geeignete Konzentration der Standardlösung ist durch Versuche ein für allemal zu ermitteln. Hier kann als Anhaltspunkt dienen, daß die beste Konzentration immer in jenem Bereich zu finden ist, wo ein Tropfen eine gerade noch deutliche Reaktion liefert.

Im folgenden sei am Beispiel der semiquantitativen Bestimmung des Eisen-III-Ions die Durchführung von tüpfelkolorimetrischen Analysen mit Hilfe der Ringofenmethode beschrieben. Als Standardlösung dient eine Lösung von Eisen-III-chlorid, die 0,1 mg Fe/ml enthält. Ein Tropfen dieser Standardlösung wird mittels der Kapillarpipette in die Mitte eines Rundfilters aufgebracht (zu quantitativen Bestimmungen verwende ich Filter von Sch. u. Sch. Nr. 589² Weißband, 5,5 cm Durchmesser). Hierauf wird auf dem Ringofen alles Eisen mit 0,1-n Salzsäure in die Ringzone gewaschen, wozu etwa 10 Tropfen Waschflüssigkeit nötig sind. Es ist wichtig — darauf sei hier ausdrücklich hingewiesen —, möglichst genau von der Mitte des Tüpfels zu waschen, um alle im Probetropfen enthaltenen Substanzen gleichmäßig in den Ring zu verteilen. Dies wird dadurch wesentlich erleichtert, daß man mit einem Bleistift vorher einen Punkt auf dem Rundfilter markiert; genau auf diesen Punkt setzt man die Kapillarpipette mit dem Tropfen der Standardlösung auf. Wenn man die Pipette mit der Waschflüssigkeit dann ebenfalls auf diesen Punkt aufsetzt, so ist die Gewähr gegeben, daß die Extraktion genau aus der Mitte erfolgt. Auch zum Aufbringen mehrerer Tropfen, wie es ja zur Herstellung der Standardskala notwendig ist, ist dieser kleine Kunstgriff nötig. Wenn alles Eisen in den Ring gewaschen ist, wird das getrocknete Filter kurz über Salzsäure und zur Oxydation über Bromwasser geräuchert, mit einer 1%igen wäßrigen Lösung von Kaliumferrocyanid besprüht oder in ihr gebadet, nochmals kurz über Salzsäure geräuchert und dann gründlich mit Leitungswasser gewaschen. Ein gleichmäßiger, deutlicher, aber schwacher Ring von Berlinerblau ist sichtbar (Ring Nr. 1). Man läßt das Filter an der Luft trocknen; dies erwies sich als besser, da das Trocknen im Trockenschrank die Farbe verändern kann. In gleicher Weise werden hierauf noch Ringe mit 2, 4, 6, 8 und 10 Tropfen der Standardlösung hergestellt und mit Nr. 2, 4, 6, 8 und 10 bezeichnet. Damit ist die Standardskala vollständig. Es ist zwecklos, Ringe mit höherer Tropfenzahl zu entwickeln, da die Farbunterschiede dann nur mehr bei größeren Mengenunterschieden deutlich genug ausfallen; diese größeren Mengenunterschiede bedeuten aber größere Intervalle in der Standardskala. Diese ist lange Zeit haltbar und kann selbstverständlich immer wieder zum Vergleich herangezogen werden, vorausgesetzt, daß man unter gleichen Bedingungen arbeitet (Tropfengröße, Reagens, Papiersorte).

Nummehr wird mit einem Tropfen der Probelösung in gleicher Weise ein Ring hergestellt. Es ergeben sich dann bei dessen Vergleich mit der Standardskala drei Möglichkeiten:

1. Der Ring ist schwächer als Standardring Nr. 1, das heißt, die Probelösung ist verdünnter als die Standardlösung. Daher wird man nicht einen, sondern mehrere Tropfen aufbringen und so in den Skalenbereich gelangen.

2. Der Ring ist zu stark, fällt also nach der anderen Seite hin aus der Skala heraus, die Probelösung ist mehr als 10fach konzentrierter als die Standardlösung. Die Probelösung muß daher verdünnt werden, um in den Skalenbereich zu gelangen.

3. Der Ring paßt gerade in die Skala. Dies bedeutet, daß die Konzentration des gesuchten Ions, hier also des Eisens, zwischen 0,1 und 1 mg/ml liegt. Dies wird meistens der Fall sein, da man ja durch die Wahl der Einwaage und des Lösungsvolumens den annähernden Konzentrationsbereich wie bei jeder Analyse frei wählen kann.

Angenommen es hätte sich ergeben, daß der aus dem Probetropfen entwickelte Ring der Größenordnung nach etwa dem Standardring Nr. 2 entspricht. Dann werden noch zwei Ringe mit 2 und 3 Probetropfen hergestellt und entwickelt. Die Wahl der Anzahl an Probetropfen hat mit Vorteil immer so zu erfolgen, daß ein möglichst weiter Bereich der Standardskala umfaßt wird. Die dafür benötigten Probetropfenzahlen sind unschwer festzustellen, wenn man den ersten in die Skala fallenden Ring einmal verglichen hat. In der Regel werden drei Ringe vollständig genügen. Die mit 1, 2 und 3 Tropfen hergestellten und entwickelten Probenringe werden hierauf mit der Skala verglichen. Es würde nun gefunden, daß der Ring aus 1 Probetropfen etwa dem Standardring Nr. 2 entspricht, der Ring aus 2 Probetropfen liege zwischen den Standardringen Nr. 4 und Nr. 6, näher zu 4 (etwa 4,5), der Ring aus 3 Probetropfen fände Entsprechung bei Standardring Nr. 8.

1 Probetropfen	2
2 Probetropfen	4,5
3 Probetropfen	8
6 Probetropfen	14,5

Hierauf werden die Tropfenzahlen ($1 + 2 + 3 = 6$) und die Nummern der Standardringe ($2 + 4,5 + 8 = 14,5$), die ja den Tropfen an Standardlösung in diesen Ringen entsprechen, addiert: 6 Tropfen ergeben 14,5; das bedeutet: Ein Probering aus 6 Tropfen entspräche theoretisch einem Standardring hergestellt aus 14,5 Tropfen Standardlösung, sofern dieser noch differenzierbar wäre. In diesen Zahlen sind die Fehler bereits weitgehend eliminiert.

Durch Division $14,5 : 6 = 2,41$ erhält man jene Zahl, die angibt, um wievielfach konzentrierter die Probelösung an Eisen ist als die Standardlösung. Durch Multiplikation des Gehaltes der Standardlösung mit dieser ermittelten Zahl erhält man die Konzentration der Probelösung:

$$2,41 \times 0,1 = 0,241 \text{ mg Fe/ml.}$$

Die tatsächliche Konzentration war in diesem Falle 0,23 mg Fe/ml. Der Fehler betrug hier etwa 4%. Es war also möglich, ein brauchbares Resultat zu erhalten, ohne genau zu schätzen.

In jenen Fällen, wo der Probering aus einem Probetropfen bereits sehr intensiv gefärbt ist — beispielsweise dem Standardring Nr. 6 entspricht —, ist es natürlich nicht möglich, Ringe mit 2, 3 oder gar mehr Probetropfen herzustellen und zu vergleichen, da diese ja dann innerhalb des Skalenbereiches keine Entsprechung mehr finden können. Hier ist es nötig, Ringe mit $\frac{1}{2}$ bzw. $1\frac{1}{2}$ Probetropfen herzustellen. Da aber der Pipetteninhalt nicht genau definiert ist, ist es nicht möglich, einen Tropfen mit genau dem halben Volumen aufzubringen. Daher wende ich mit Vorteil folgenden Kunstgriff an: 1 Tropfen wird statt auf 1 Rundfilter auf 2 aufeinanderliegende Filter aufgebracht, diese beiden Filter werden zusammen auf den Ringofen gelegt und wie üblich ausgewaschen. Hierzu ist es

natürlich nötig, länger, d. h. mit mehr Waschflüssigkeit zu waschen. Ist alles Eisen in die Ringzone beider Filter gewaschen, also auf beide aufgeteilt, werden die beiden Filter voneinander abgehoben und getrocknet. Jedes der Filter enthält nunmehr in der Ringzone die Hälfte des Eisens im Probetropfen. Die Teilung erfolgt mit genügend großer Genauigkeit. In analoger Weise werden Ringe mit $1\frac{1}{2}$ Tropfen hergestellt, indem man 3 Tropfen auf zwei Filter aufbringt und auswäscht.

Die folgende Tabelle 3 gibt einige Beispiele an:

Tabelle 3. Eisen.

Nr.	Entsprechend Standard bei Probetropfenzahl						Konzentration in mg/ml	
	$\frac{1}{2}$	1	$1\frac{1}{2}$	2	3	4	ermittelt	vorhanden
1		2		4,5	8		0,241	0,23
2	3	5	7				0,50	0,46
3		2		5		9	0,228	0,21
4	1,5	4		9			0,41	0,43
5	1	3,5		8			0,35	0,32
6		1			2	4	0,08	0,09

Die Durchführung einer solchen tüpfelkolorimetrischen Bestimmung mit Hilfe der Ringofentechnik nimmt nicht mehr als etwa 10 Minuten in Anspruch. Die Mengen an Probelösung, die benötigt werden, lassen sich aus der Tabelle leicht ersehen (1 Tropfen = $1,5\ \mu\text{l}$); der feste Probenanteil beträgt etwa $2\ \mu\text{g}$ pro Analyse. Man beachte, daß die Schätzungen der Intensität und der Proberinge — also der Vergleich mit der Standard-skala nur sehr angenähert erfolgen muß. (Ganze Zahlen.)

In gleicher Weise wurden Bestimmungsmethoden für Nickel (mit Dimethylglyoxim), für Kobalt (mit α -Nitroso- β -Naphthol) und für Kupfer (Fällung als Sulfid, Umwandlung in Silbersulfid durch Baden in 1%iger Silbernitratlösung) ausgearbeitet. Ohne Zweifel wird sich diese Methode auch zur Analyse anderer Ionen eignen.

In den meisten Fällen ist es nicht nötig, störende Ionen gesondert zu entfernen, da die Ringofenmethodik die Möglichkeit bietet, dies auf bequeme Weise auf dem Papier selbst zu tun:

1. Durch Fixierung im ursprünglichen Tüpfelfleck.

2. Durch Herauslösen störender Ionen aus dem bereits entwickelten Ring.

In jenen Fällen aber, wo das störende Ion in übergroßer Konzentration — viel höher als die des zu bestimmenden Ions — in der Lösung vorhanden ist und es daher geboten erscheint, dieses vorher zu entfernen, kann dies mit Hilfe mikroanalytischer Methoden in einfacher Weise geschehen.

Es ist selbstverständlich, daß mit den hier geschilderten Anwendungsbeispielen die Möglichkeiten der Ringofenmethode keineswegs erschöpft sind. Auf qualitativem Gebiet ist es nun möglich, für spezielle Zwecke individuelle Analysengänge auszuarbeiten. Aber nicht nur für anorganische Substanzen, sondern auch zur Untersuchung organischer Stoffe müßte sich diese Technik heranziehen lassen.

Die weitere Entwicklung der quantitativen Anwendungen wird in erster Linie darin bestehen, andere Kationen und Anionen der bequemen Bestimmung zugänglich zu machen und für spezielle Zwecke praktische Verfahren zu entwickeln.

Zusammenfassung.

Der Ringofen, ein Heizblock, der in der Mitte eine Bohrung trägt, dient dazu, die in einem auf Papier fixierten Niederschlag enthaltenen löslichen Anteile auszuwaschen und in einer schmalen Ringzone zu konzentrieren.

Zur Fällung mit gasförmigen Reagenzien in einem Probetropfen auf Papier dient eine Glasapparatur: Das Reagens wird durch das Filter hindurchgesaugt, wodurch die Fällung sehr rasch und quantitativ erfolgt.

Da nach dem Auswaschen der löslichen Anteile zwischen dem in der Mitte zurückbleibenden Niederschlag und dem Ring eine freie Zone liegt, kann der Niederschlag mittels eines Locheisens ausgestanzt werden. Die auf dem kleinen Filterpapierschleibchen befindlichen Substanzen können

nach entsprechender Vorbehandlung weiter in Gruppen aufgeteilt werden. So ist es möglich, die in einem Probetropfen vorhandenen Substanzen in mehrere Gruppen zu teilen und zu identifizieren.

Die Ringofenmethode ermöglicht auch die Durchführung semiquantitativer Analysen. Dazu sind nur etwa $2 \mu\text{g}$ d-s zu bestimmenden Ions nötig.

Summary.

The ring furnace, a heating block, which carries an aperture in its center, serves for the washing of soluble materials from a precipitate fixed on filter paper and to concentrate them in a narrow zone.

A glass device serves for the precipitation with gaseous reagents in a test drop on paper. The reagent is sucked through the filter and the precipitation is very fast and quantitative.

Since a free zone lies between the precipitate left in the center and the ring after the soluble materials have been washed out, the precipitate can be cut out with a punch. The substances on the small paper disk can be separated into still other groups after appropriate preliminary treatment. Consequently it is possible to divide the materials present in a single drop of test solution into several groups and to identify them.

The ring furnace method further makes it possible to conduct semi-quantitative analyses. These require only about $2 \mu\text{g}$ of the ion to be determined.

Literatur.

- ¹ H. Weisz, *Mikrochim. Acta* [Wien] 1954, 140.
- ² H. Weisz, *Mikrochim. Acta* [Wien] 1954, 376.
- ³ H. Weisz, *Mikrochim. Acta* [Wien] 1954, 460.
- ⁴ H. Weisz, *Mikrochim. Acta* [Wien] 1954, 785.
- ⁵ *Chem. Eng. News* 1954, 3770.
- ⁶ H. Weisz, *Chem. Age* 1954, 1039.
- ⁷ H. Weisz, *J. Chem. Education* 32, 70 (1955).
- ⁸ F. Pavelka, *Microanalisi*, Vol. I. *Inorganica Qualitativa*. Firenze: CYA. 1954. S. 28-30, 46-47, 336, 343-347.

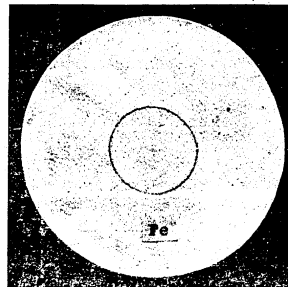
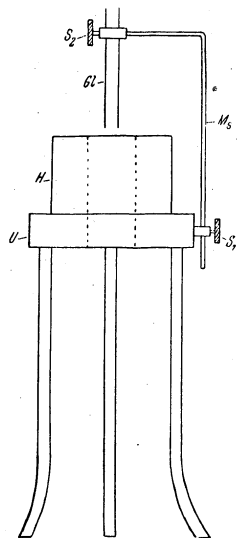


Abb. 2.

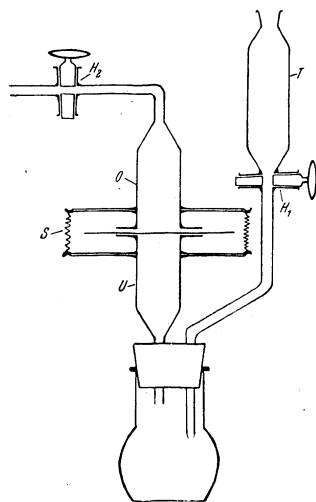


Abb. 3.

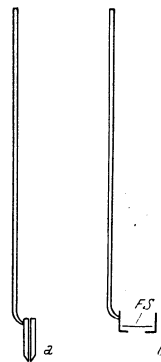


Abb. 4.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/31.

Zeilenanzahl: 183.

Aus dem Chemisch-physikalischen Institut der Bundesforschungsanstalt für
Fleischwirtschaft in Kulmbach, Bayern.

Über die Bestimmung von Calcium, Magnesium, Zink und Eisen in tierischem Gewebe.

Von

Reiner Hamm.

(Eingelangt am 26. März 1955.)

Im Zusammenhang mit Untersuchungen über die Hydratation der Muskelproteine erwies es sich als notwendig, diejenigen mineralischen Bestandteile des Muskelgewebes analytisch zu erfassen, die die Hydratation des Fleischiweißes herabzusetzen vermögen. Als solche kommen im Muskel lediglich Calcium (ca. 5 mg%), Magnesium (ca. 25 mg%), Zink (ca. 3 mg%) und Eisen (ca. 3 mg%) in Betracht. Ich möchte in Kürze über unsere Bemühungen berichten, diese Elemente in der Lösung einer einzigen Veraschung quantitativ zu erfassen.

Der rascheste Weg zur Bestimmung von Calcium, Magnesium und Zink schien uns die bekannte, von *Schwarzenbach* und Mitarbeitern¹ eingeführte und vor allem von *Flaschka*² weiter entwickelte Methode der komplexometrischen Titration mit Äthylendiamintetraacetat zu sein. Dieses Verfahren wurde bereits auf die Analyse von Pflanzenaschen und Milch, nicht aber von tierischen Geweben angewendet, die ihres relativ hohen Phosphat- und Eisengehaltes wegen Schwierigkeiten eigener Art bereiten. Da Phosphat, gleichgültig, ob es als Ortho-, Meta- oder Pyrophosphat vorliegt, durch Fällung bzw. Komplexbildung der Erdalkalien die komplexometrische Titration stört, muß es zuvor abgetrennt werden. Hierzu erwies sich der bereits von *Mason*³ bei Pflanzenaschen beschrittene Weg über Kationenaustauscher als geeignet. Gibt man die Lösung von Muskelasche in 0,1-n Salzsäure durch den Kationenaustauscher Lewatit S 100 (H⁺-Form), so werden Calcium, Magnesium und Zink quantitativ zurückgehalten, während sich das gesamte Phosphat im Durchlauf findet. Durch zweimaliges Eluieren mit 5-n Salzsäure und Nachwaschen mit Wasser werden die Kationen quantitativ eluiert. Während die direkte komplexometrische Titration des Calciums mit 0,01-m Titriplex gegen Murexid als Indikator keinerlei Schwierigkeiten bereitet, stört die mit der Elutions-säure eingeführte hohe Chloridkonzentration die Titration von Ca + Mg + Zn gegen Eriochromschwarz T empfindlich, indem sie durch Verfärbung ein Erkennen des Umschlagpunktes nahezu unmöglich macht. Diese störende Wirkung läßt sich beseitigen, wenn man den gegen Eriochromschwarz zu titrierenden aliquoten Teil des Eluates auf dem Sandbad zur Trockene einengt, mit 0,1-n Salzsäure aufnimmt und dann titriert. Nimmt man nach *Schwarzenbach*¹ diese Titration in Gegenwart von Kaliumcyanid vor, so werden infolge Komplexbildung des Zinks nur Calcium und Magnesium erfaßt. Indem man dann nach Erreichen des Umschlagpunktes nach Angaben von *Pribil* Chloralhydrat zusetzt, wird der Zinkcyanidkomplex zerstört und man kann nunmehr auch das Zink mit Äthylendiamintetraacetat bis zum erneuten Umschlag titrieren. Es sind also zur Erfassung von Calcium, Magnesium und Zink zwei Titrations erforderlich.

Die Methode von *Körös*⁴, zunächst Calcium gegen Murexid zu titrieren, dann das Murexid mit 5-n Salzsäure zu farblosen Abbauprodukten zu zersetzen, um dann in derselben Lösung nach Zugabe von Eriochromschwarz Calcium + Magnesium zu titrieren, scheitert nach unseren Erfahrungen an dem störenden Einfluß der hohen Chloridkonzentration.

Wir titrierten mit 0,01-n Titriplexlösung (Merck) aus der 200 µl fassenden Mikrobürette nach *Gorbach*⁵, wobei pro Titrationsansatz etwa 10 µg

Ca (ca. 25 μ l), 50 μ g Mg (ca. 200 μ l) und 6 bis 7 μ g Zn (ca. 10 μ l) vorlagen. Die Erkennung des Umschlagpunktes erfordert einige Übung. Es ist hierbei wichtig, daß stets gegen eine Vergleichslösung mit der Farbe des reinen Indikators titriert wird.

Eisen-II- und Eisen-III-Ionen werden aus 0,1-n salzsaurer Lösung quantitativ gegen die H-Ionen des Kationenaustauschers ausgetauscht und durch 5-n Salzsäure wieder eluiert. Gibt man jedoch die Lösung einer Trockenasche von Muskelgewebe in 0,1-n Salzsäure durch die Austauschersäule, so findet sich nahezu alles Eisen im Durchlauf wieder. Wie wir an Hand von Modellversuchen feststellten, beruht dieses Verhalten auf der Anwesenheit von Phosphat. Während Orthophosphat den Austausch des Eisens nicht beeinträchtigt, bildet Eisen mit dem in der Muskelasche stets im Überschuß vorhandenen Pyrophosphat Natrium-Eisen-Pyrophosphat-Komplexe, die so stabil sind, daß sie bei pH 2,0 und darüber Eisen nicht gegen die H-Ionen des Kunstharzes auszutauschen vermögen. 90 bis 95% des eingesetzten Eisens finden sich im Durchlauf, der Rest (5 bis 10%) zusammen mit Ca, Mg und Zn im stark salzsauren Eluat (pH 1,2). Der Gesamt-Eisengehalt läßt sich ohne weiteres in einer einzigen Bestimmung erfassen, wenn man aliquote Teile von Durchlauf und Eluat vereinigt und dann mit o-Phenanthrolin die Eisenmenge photometrisch ermittelt.

Hierbei ist allerdings zu berücksichtigen, daß das übliche Phenanthrolin-Verfahren nach Heilmeyer⁶ durch Pyrophosphat (nicht durch Orthophosphat) durch starke Verzögerung der Farbentwicklung empfindlich gestört wird. Diese Schwierigkeit läßt sich durch Anwendung der Methode von Bandemer und Schaible⁷ leicht umgehen, bei der man Phenanthrolin und Hydrochinon in stärker saurem Milieu zusetzt und erst dann mit Citratpuffer auf pH 3 bis 5 einstellt.

Die Tatsache, daß durch Behandeln mit dem Kationenaustauscher der weitaus größte Teil des Eisens von Erdalkalien und Zink abgetrennt wird, ist für die komplexometrische Titration dieser Elemente von großem Vorteil, denn bekanntlich wird der Farbumschlag bei Gegenwart von Eisen unscharf. Die üblichen Kunstgriffe zur Maskierung des Eisens sind hier also unnötig.

Im Zusammenhang mit diesen Untersuchungen fanden wir, daß ganz allgemein eine quantitative Trennung des Eisens von den zweiwertigen Ionen Calcium, Magnesium und Zink möglich ist, wenn man der Analysenlösung Alkalipyrophosphat im Überschuß zusetzt — in der Asche von Muskelgewebe ist dieses von Haus aus enthalten —, auf pH 4 einstellt und durch den Kationenaustauscher gibt. Dann findet sich das gesamte Eisen im Durchlauf, während die übrigen Kationen nach Elution mit 5-n Salzsäure quantitativ erfaßt werden können.

Es sei noch hingewiesen auf die Wahl der richtigen Veraschungsmethode, deren Bedeutung häufig unterschätzt wird. Für die gemeinsame Bestimmung von Ca, Mg, Zn und Fe kommt nur die trockene Veraschung in Platinschalen in Betracht, bei Verwendung von Quarzschalen erhielten wir zu niedrige Eisenwerte. Vermutlich bildet das Eisen mit dem Tiegelmateriale schwer lösliche Reaktionsprodukte. Während Standardmischungen aus den entsprechenden Kationen und Phosphat nach trockener Veraschung (in Platinschalen) nur teilweise in 0,1-n Salzsäure löslich sind, löst sich Fleischasche sehr leicht. Vielleicht wirken hier bestimmte, in der Asche anwesende Alkalisalze als Lösungsvermittler, so wie man z. B. schwer lösliche polymere Metaphosphate durch Zusatz von Alkaliphosphaten oder -sulfaten in Lösung bringen kann. Ein Salpetersäurezusatz zur Beschleunigung der Veraschung verbietet sich wegen der Bildung stark gelb gefärbter, isolierbarer Nitroverbindungen, deren Eigenfarbe zu hohe Eisenwerte ergibt. Aus ähnlichen Gründen erhält man — nach unseren Erfahrungen — bei nasser Veraschung mit Schwefelsäure-Salpetersäure zu hohe Eisenwerte. Hierbei ist die Konzentration an Nitroverbindungen meist so gering, daß ihre Farbe zwar mit bloßem Auge nicht mehr erkannt, wohl aber von dem Photometer registriert wird.

Abschließend sei der besprochene Analysengang noch einmal kurz zusammengefaßt: 1 bis 5 g Gewebe werden in Platinschalen bei 550° C im Muffelofen verascht, die Asche in 0,1-n Salzsäure gelöst, durch eine Säule mit 1 bis 1,5 g Lewatit S 100 gegeben und mit Wasser nachgewaschen

(= „Durchlauf“). Sodann wird mit 5-n Salzsäure eluiert und wiederum mit Wasser nachgewaschen (= „Eluat“). In einem aliquoten Teil des Eluats wird durch Titration gegen Murexid das Calcium, in einem weiteren aliquoten Teil nach Eindampfen zur Trockene und Aufnehmen mit 0,1-n Salzsäure durch Titration gegen Eriochromschwarz in Gegenwart von Kaliumcyanid Calcium + Magnesium und nach Zusatz von Chloralhydrat das Zink komplexometrisch ermittelt. Ferner wird je ein aliquoter Teil des Durchlaufes und des Eluates zusammengegeben und darin das Eisen mit o-Phenanthrolin nach der Methode von *Bandemer* und *Schaible*⁷ photometrisch bestimmt.

Dem Fleisch zugesetztes Calcium, Magnesium, Zink und Eisen wurden nach dieser Methode quantitativ wiedergefunden. Der *mittlere Fehler* belief sich bei Calcium, Magnesium und Eisen auf $\pm 1,5\%$, bei Zink auf $\pm 2,6\%$. Diese Fehlerbreite umfaßt allerdings auch die Schwankungen, die mit der mangelnden Homogenität des Untersuchungsmaterials zusammenhängen und somit nicht in der Analysenmethode begründet liegen. Der für die Aufarbeitung der Aschen und die Bestimmungen notwendige Zeitaufwand beträgt etwa einen halben Tag. Durch Anwendung einer Serie von Austauschersäulen lassen sich innerhalb eines Tages von einer Person bequem 10 Aschelösungen aufarbeiten.

Es ist somit möglich, in einer einzigen Veraschungslösung den Calcium-, Magnesium-, Zink- und Eisengehalt in Gewebe nach Abtrennung des Phosphats durch zwei Titrations und eine kolorimetrische Bestimmung zu ermitteln.

Zusammenfassung.

Es wird über ein Verfahren berichtet, den Calcium-, Magnesium-, Zink- und Eisengehalt tierischen Gewebes (1 bis 5 g) in einer einzigen Veraschungslösung zu bestimmen. Die salzsaure Lösung der Trockenasche wird durch eine Kationenaustauscher-Säule gegeben und hierdurch Phosphat und 90 bis 95% des Eisens von Calcium, Magnesium und Zink getrennt. Die drei letzteren Elemente werden von der Säule unter Austausch zurückgehalten und nach Elution mit 5-n Salzsäure durch zwei komplexometrische Titrations bestimmt. In dem mit dem Eluat vereinigten Durchlauf wird Eisen mittels der o-Phenanthrolin-Reaktion erfaßt. Auf die Veraschungsbedingungen und die Eisenbestimmung mit Phenanthrolin wird näher eingegangen.

Summary.

A report is given of a method of determining the calcium, magnesium, zinc, and iron content of an animal tissue (1 to 5 g) in a single incineration solution. The hydrochloric acid solution of the dry ash is passed through a cation exchange column. In this manner, phosphate and 90 to 95% of the iron is separated from calcium, magnesium, and zinc. The three latter elements are retained by the column by exchange. After elution with 5 N hydrochloric acid they are determined by two complexometric titrations. Iron is determined in the eluate combined with the rinsings; the o-phenanthroline reaction is employed. Details are given of the incineration conditions and the determination of the iron by means of phenanthroline.

Literatur.

- ¹ G. Schwarzenbach, W. Biedermann und F. Bangerter, *Helv. Chim. Acta* **29**, 811 (1946). G. Schwarzenbach und H. Ackermann, *Helv. Chim. Acta* **30**, 1798 (1947).
- ² H. Flaschka, *Mikrochem.* **39**, 38 (1952); *Z. analyt. Chem.* **138**, 332 (1953); *Chemist-Analyst* **42**, 56, 84 (1953). H. Flaschka und A. Holasek, *Z. physiol. Chem.* **288**, 244 (1951); *Röntgen- und Laboratoriumspraxis* **6**, 72 (1953). H. Flaschka und R. Püschel, *Z. analyt. Chem.* **143**, 771 (1954). A. Holasek und H. Flaschka, *Z. physiol. Chem.* **290**, 57 (1952).
- ³ A. C. Mason, *Analyst* **77**, 529 (1952).
- ⁴ E. Körös, *Ungar. Z. Chem.* **59**, 137 (1953), zitiert nach *Chem. Zbl.* **1955**, 1805.
- ⁵ G. Gorbach, *Chem. Fabrik* **14**, 387 (1941).
- ⁶ L. Heilmeyer und H. Plötner, *Das Serum Eisen und die Eisenmangelkrankheit*. Jena: 1937. S. 8. L. Heilmeyer, W. Keoderling und G. Stüme, *Kupfer und Eisen als körpereigene Wirkstoffe und ihre Bedeutung beim Krankheitsgeschehen*. Jena: 1941.
- ⁷ S. L. Bandemer und P. J. Schaible, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **16**, 317 (1944).
- ⁸ R. P. ibil, zitiert nach H. Flaschka, *Chemist-Analyst*. **42**, 84 (1953).

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/32.

Zeilenanzahl: 248.

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

Über die Verwendung von Kupfer bei der Mikro-C-H-Bestimmung.

Von

Gerald Kainz, Albert Resch und Ferdinand Schöller.

Mit 4 Abbildungen.

(Eingelangt am 28. März 1955.)

Bei der Verbrennung stickstoffhaltiger organischer Substanzen entstehen bekanntlich Stickoxyde, deren Beseitigung unerlässlich ist. *Pregl* hat hierfür das von *Kopfer*¹ empfohlene Bleidioxid verwendet. Wie jedoch von mehreren Autoren²⁻⁴ aufgezeigt wurde, stellt Bleidioxid den empfindlichsten Teil der Rohrfüllung dar, der am ehesten Störungen verursacht. Auf eine genaue Erörterung der Störungen kann verzichtet werden, da darüber ausgezeichnete Darstellungen (z. B. *Roth*⁵) vorliegen.

Es hat daher nicht an Versuchen gefehlt, das Bleidioxid durch andere, Stickoxyde bindende oder zerlegende Mittel zu ersetzen⁶. Eines der besten Mittel zur Zerlegung der Stickoxyde ist wohl das von *Lindner*⁷ für die Mikro-C-H-Analyse vorgeschlagene Kupfer: es reduziert zuverlässig die bei der Verbrennung auftretenden Stickoxyde, wirkt kaum auf die Verbrennungsprodukte Wasser und Kohlendioxid ein und verzögert deren Ableitung aus der Rohrfüllung in keiner Weise.

Trotz dieser anerkannt guten Eigenschaften war es bis vor kurzem unmöglich, Kupfer für Serienbestimmungen zu verwenden, da es bereits nach wenigen Bestimmungen durch den Sauerstoff des Verbrennungsgases gänzlich oxidiert war und in diesem Zustande Stickoxyde nicht mehr reduzierte.

Nunmehr ist es gelungen, die Mikro-C-H-Bestimmung so zu gestalten und auszubauen, daß man Kupfer zumindest für eine Tagesserie von 10 bis 12 Analysen verwenden kann, bevor es neuerlich regeneriert werden muß. Es sind dies die C-Bestimmung nach *Wurzschnitt*⁸, die titrimetrische C-H-Bestimmung nach *Unterzaucher*⁹ und die gravimetrische C-H-Bestimmung nach *Kainz*¹⁰. In späterer Folge haben noch *Backeberg*¹¹ sowie *Mangeney*¹² mit Kupfer gearbeitet.

Obwohl sich unser Verfahren¹⁰ im jahrelangen Gebrauch bewährte, haben wir uns bemüht, es apparativ noch einfacher zu gestalten. Ein weiteres Ziel war die Herstellung einer noch aktiveren Kupferschicht. Hierüber seien nun weitere Einzelheiten mitgeteilt.

Bekanntlich spielen sich im Verbrennungsrohr mit obiger Füllung zwei wichtige Vorgänge ab: einerseits die Oxydation der organischen Substanz durch Sauerstoff oder Kupferoxyd, andererseits die Reduktion der Stickoxyde durch elementares Kupfer.

Der Verbrennungsvorgang.

Zur Schonung der Kupferschicht muß der Verbrennungsvorgang so abgestimmt sein, daß mit einem Minimum an Sauerstoff zuverlässige quantitative Oxydation der organischen Substanz erzielt wird. Wie wir bereits früher¹⁰ zeigen konnten, ist ein Zusatz von 15 bis 20 ml Sauerstoff zu einem inerten Gas, wie Stickstoff, vollkommen ausreichend, um jede organische Substanz in Verbindung mit einer Kupferoxyd-Bleichromat-Rohrfüllung quantitativ zu verbrennen. *Unterzaucher*¹³ kommt bei seiner Stickstoffbestimmung (Kohlendioxid als Treibgas, dem etwas Sauerstoff zugemischt ist) zu dem Ergebnis, daß sogar eine geringere Sauerstoffmenge (4 ml pro Bestimmung) genügt.

Im Laufe unserer Untersuchungen mit Stickstoff-Sauerstoff-Gemischen ergaben sich interessante Einzelheiten über den Verbrennungsvorgang, die sich bisher bei ausschließlicher Verwendung von Sauerstoff der Beobachtung entzogen haben. Sie zeigen uns, welche Faktoren für die quantitative Oxydation der Analysenprobe maßgeblich sind.

Bekanntlich verflüchtigen sich viele organische Substanzen zu Beginn der Verbrennung andere wieder zersetzen sich in einen flüchtigen Anteil und in einen teerartigen Rückstand. Die *flüchtigen Anteile* gelangen zur Kupferoxydschicht und werden dort vom *Sauerstoff des Kupferoxyds* oxydiert, wobei in der (schwarzen) Kupferoxydschicht vorübergehend ein (roter) Kupferfleck auftritt. Interessant ist, daß diese Reduktionsringe je nach Substanz an verschiedener Stelle liegen. Dies dürfte einerseits von der Flüchtigkeit und Stabilität der organischen Substanz, andererseits von der Temperatur der Kupferoxydschicht abhängen.

Wie aus Abb. 1a ersichtlich ist, gibt es Substanzen, deren Oxydation bei 500° so spät erfolgt, daß der Reduktionsring beim Ende der Kupferoxydschicht liegt; somit können flüchtige Anteile unzersetzt durchgehen*.

* Die Länge der Kupferoxydschicht betrug bei diesen Versuchen 9 cm.

Erhöht man hingegen die Temperatur des Verbrennungsrohres (Abb. 1b), so befinden sich die Reduktionsringe mehr zu Anfang der Kupferoxydschicht und eine quantitative Oxydation scheint gewährleistet. Die Oxydation der flüchtigen Bestandteile ist allerdings erst beendet, wenn der Reduktionsring durch nachfolgenden Sauerstoff wieder aufoxydiert ist; am reduzierten Kupfer haften nämlich oft organische Krackprodukte, die ebenfalls oxydiert werden müssen*.

* Durch diese Beobachtung erklärt sich auch die von anderen Autoren gemachte Feststellung, daß die *Preglsche Stickstoffbestimmung* bei schwer verbrennbaren Substanzen manchmal zu tiefe Resultate gibt. Als Ursache führte man Rückstandskohle in der feinen Kupferoxydschicht an. Wir konnten in solchen Fällen stets eine *örtliche Anreicherung* von reduzierten Kupferoxydteilchen, feststellen. Da diese Kupferteilchen organische Krackprodukte festhalten, die im Kohlendioxidstrom nicht oxydiert werden, fallen die Ergebnisse zu tief aus.

Wie bereits erwähnt, treten bei vielen Substanzen vorübergehend auch *teerartige Rückstände* auf. Diese erstrecken sich vom Platinschiffchen bis zur Kupferoxydschicht. Ihre Oxydation muß durch den *Sauerstoff des Verbrennungsgases* erfolgen. Wir fanden, daß hierfür nicht nur die Sauerstoffkonzentration, sondern vor allem die Temperatur der Öfen maßgebend ist. Die kritische Zone der Verbrennung reicht, ausgehend vom Platinschiffchen, bis etwa 3 bis 4 cm innerhalb des Langbrenners. Bei vielen elektrischen Öfen fällt die Temperatur gerade in diesem Bereich ziemlich stark ab, insbesondere beim Übergang Kurzburner—Langburner (vgl. Abb. 2). Daher ist dort die größte Gefahr zum Verbleib schwer verbrennbarer Rückstände gegeben.

Zweifelloos ist diese Gefahr bei Gasbeheizung, wie sie z. B. *Pregl* verwendet, wesentlich geringer. Wenn daher von manchen Autoren behauptet wird, die *Preglsche C-H-Bestimmung* ergäbe manchmal zu tiefe Resultate, so ist dies oft auf den Umstand zurückzuführen, daß eine elektrische Beheizung mit schlechter Ofencharakteristik verwendet wurde.

Die Reduktion der Stickoxyde.

Die in der Rohrfüllung vorhandene endständige Kupferschicht reduziert nicht nur die Stickoxyde, sondern nimmt zwangsläufig auch den Sauerstoff des Verbrennungsgases auf, sofern dieser nicht zur Oxydation der organischen Substanz, bzw. des von ihr reduzierten Kupferoxyds verbraucht wurde. Da hierdurch die Kupferfüllung schnell erschöpft wird, scheiterten lange Zeit die Versuche, Kupfer zur Reduktion der Stickoxyde in die Elementaranalyse einzuführen. Erst als man erkannte, daß zur quantitativen Verbrennung der Substanz nur eine relativ geringe Menge Sauerstoff notwendig ist (*Lindner*⁷, *Unterzaucher*¹³, *Kainz*¹⁰), schien die Verwendung von Kupfer bei der Mikro-C-H-Analyse aussichtsreich.

Eine gewisse Schwierigkeit stellte bisher die Bereitung genügend aktiver Kupferschichten dar. Trotz apparativer Vorkehrungen zur Schonung der Kupferschicht mußten wir diese bei unserem damaligen Verfahren maxi-

mal nach 10 bis 12 Analysen reduzieren. Im Bestreben, eine aktivere und dauerhaftere Kupferschicht herzustellen, fanden wir folgende Gesichtspunkte maßgebend:

a) Die Kupferzone soll eine möglichst große Oberfläche besitzen, denn Kupfer wird unter den Bedingungen der C-H-Bestimmung nur an der Oberfläche, kaum jedoch weiter innen oxydiert. Gut bewährte sich Kupfergrieß von etwa 0,5 bis 0,8 mm Korngröße, hergestellt aus Kupferoxyd. Daneben versuchten wir auch, Kupfer auf eine Trägersubstanz, z. B. Quarzgrieß oder Bimsstein, aufzutragen. Diese Präparate waren aber wesentlich weniger aktiv, da deren Oberfläche geringer war.

b) Die Sinterung des Kupfers soll weitgehend verhindert werden; ansonst nimmt die Aufnahmekapazität des Kupfers für Sauerstoff während des Gebrauches schnell ab. Die Sinterung ist hauptsächlich auf zwei Ursachen zurückzuführen: Einerseits auf die Temperatur der Kupferschicht während des Verbrennungsvorgangs; diese soll 400—450° — obige Korngröße und Herstellung des Kupfers vorausgesetzt — nicht überschreiten. Andererseits auf die Art und Weise, wie man die Reduktion der verbrauchten Kupferschicht durchführt: wird nämlich die Reduktion im *schnellen* Wasserstoffstrom bei 450° vorgenommen, so verursacht die örtlich entwickelte Reaktionswärme ein baldiges Zusammensintern des Kupfers. Dies ist hingegen nicht der Fall, wenn man Wasserstoff im *langsamen* Tempo durchleitet. Noch besser arbeitet man bei 300°, wobei die Strömungsgeschwindigkeit des Wasserstoffs nicht so ausschlaggebend ist.

Mit Hilfe solcher Kupferschichten war es möglich, unsere früher beschriebene Methodik¹⁰ apparativ weiter zu vereinfachen. So konnte auf die Zuführungsleitung, die zur Schonung der Kupferschicht angebracht war, verzichtet werden. Obwohl nunmehr während der ganzen Bestimmung Luft verwendet wird, reicht das Kupfer für eine Tagesserie von etwa 14 Analysen, bevor es neuerlich reduziert werden muß.

Beschreibung der Apparatur.

Apparativ kann nunmehr im Vergleich zu früher¹⁰ auf folgende Teile verzichtet werden: Glockengasometer, Mariottesche Flasche, sowie Zuführungsleitung C (vgl. frühere Mitteilung¹⁰).

1. *Gaszufuhr*: Das Verbrennungs- und Spülgas (Luft) wird direkt einem Gasometer entnommen; die Regulierung erfolgt mittels eines Feineinstellhahnes. An Stelle der bisherigen gealterten Gummischläuche werden PVC-Schläuche verwendet. Nach Passieren eines Blasen Zählers und eines U-Rohres (gefüllt mit Anhydron-Ascarite) gelangt der Luftstrom über einen Dreiweghahn in das Verbrennungsrohr. Der Dreiweghahn dient in seiner zweiten Stellung zum Einleiten von Wasserstoff zwecks Regenerierung der Kupferschicht.

2. *Verbrennungsrohr*: Übliche Ausführung nach Pregl; lediglich der Schnabel ist auf 35 bis 40 mm verlängert.

3. *Füllung des Verbrennungsrohres*: Je nachdem, ob ein Supremax- oder ein Quarzrohr verwendet wird, ist die Füllung verschieden.

a) *Supremaxrohr*: Als Oxydationsschicht wird Kupferoxyd-Bleichromat benützt (vgl. frühere Mitteilung¹⁰). Bleichromat begünstigt die Oxydation der organischen Substanz indem es die Bildung von Kohlerückständen an der Rohrwand verhindert.

b) *Quarzrohr*: Da Quarzrohre bei Verwendung von Bleichromat keine lange Lebensdauer besitzen, verwendet man Kupferoxyd allein; allerdings sind höhere Temperaturen notwendig; Kurz Brenner: 800°, Langbrenner: 750°.

Bei ausschließlicher Verwendung von Kupferoxyd muß man besonders auf dessen Korngröße achten. Wir fanden, daß sich eine Korngröße von 0,5 bis 0,8 mm, also relativ feines Kupferoxyd, am besten eignet; dies ist verständlich, da die wirksame Oxydationsoberfläche bei feinem Kupferoxyd wesentlich größer ist als bei grobem. Diese Oxydationsfüllung ist so aktiv, daß eine Schicht von 9 cm für die quantitative Oxydation vollkommen ausreicht, während man bisher (bei grobem, drahtförmigem Kupferoxyd) 16 bis 18 cm nehmen mußte (vgl. auch Korshun¹⁴).

Die Rohrfüllung wird gemäß Abb. 3 vorgenommen. Vor der Oxydationsschicht befindet sich eine auswechselbare Quarzhülse, die mit Silberwolle gefüllt ist (Abb. 4); diese soll den Hauptteil der Halogene, bzw. des Schwefels aufnehmen und so das in größeren Mengen störende Silberhalogenid, bzw. -sulfid von der Rohrwandung fernhalten. Die Regenerierung der Silberwolle erfolgt von Zeit zu Zeit außerhalb des Rohres mit Wasserstoff. Die Kupferoxydschicht beginnt erst 3 bis 4 cm innerhalb des Langbrenners, so daß man beobachten kann, ob in diesem, für die Verbrennung kritischen Teil noch schwer verbrennbare Kohle vorhanden ist. Die Kupferoxydschicht

ist 9 cm lang und mit etwas feingeschnittenem Silberdraht versetzt. Daran schließt eine Silberspirale, sowie eine 7 cm lange Kupferschicht. Im Schnabel des Verbrennungsrohres befindet sich ein Silberdraht zwecks besserer Wärmeleitung.

4. *Verbrennungsöfen*: Als solche haben sich besonders die elektrischen Quarzbrenner der Firma P. Haack, Wien, bewährt. Diese sind durchsichtig, so daß man den Verbrauch der Kupferschicht, bzw. eventuelle Kohlerückstände im Rohr beobachten kann.

5. *Absorptionsgefäße* (nach Pregl) werden entweder mit Gummischläuchen oder mit (trockenen) Schliffen zusammengeschlossen. Letztere ermöglichen ein genaueres Arbeiten.

Durchführung der Bestimmung.

Zu Beginn einer Tagesserie wird zunächst die verbrauchte Kupferschicht mittels Wasserstoff (aus einer Bombe) reduziert. Zwecks Messung der Gasgeschwindigkeit wird an das C-H-Rohr vorübergehend ein abgewinkeltes Glasrohr angeschlossen, das in Wasser taucht. Die Zuführung des Wasserstoffs erfolgt, wie oben beschrieben, über einen Dreiweghahn. Ist die Kupferschicht regeneriert, so beschleunigt man das Tempo des Wasserstoffstroms, um eventuelle Wasserreste im Schnabel des Rohres zu entfernen.

Sodann verdrängt man den Wasserstoff aus der Apparatur durch Luft; dies erfordert etwa 10 bis 15 Minuten*. In der Zwischenzeit macht man die erste Ein-

* Da die Kupferschicht bei längerem Ausspülen mit Luft mehr als bei einer Analyse beansprucht wird, empfiehlt sich das Einbringen einer Quarzhülse nach Abb. 4, die mit Kupferwolle gefüllt ist. Diese wird unmittelbar vor Analysenbeginn wieder herausgenommen. Die Regenerierung der Kupferwolle erfolgt mit Methylalkohol; anschließend Trocknung im evakuierten Exsikkator.

waage und wägt die Absorptionsgefäße, die vorher mit Stickstoff (aus einem Gasometer) gefüllt wurden. Die Verbrennung wird in üblicher Weise vorgenommen: 10 Minuten automatische Verbrennung, 10 Minuten Nachglühen, 10 Minuten Nachspülen.

Dauer der Bestimmung in Serie: 30 Minuten.

Zusammenfassung.

Die bereits früher beschriebene Apparatur zur serienmäßigen Mikrobestimmung des Kohlenstoffs und Wasserstoffs, bei der Kupfer zur Reduktion der Stickoxyde verwendet wurde, konnte weiter vereinfacht werden. Im einzelnen werden die Bedingungen für eine quantitative Oxydation organischer Substanzen im *Luftstrom*, sowie die Herstellung einer besonders aktiven Kupferschicht, die für eine Tagesserie von 14 Bestimmungen ausreichend ist, beschrieben. Ferner werden interessante Einzelheiten über den Verbrennungsvorgang mitgeteilt.

Summary.

Still more simplification has been made in the apparatus, previously described, for the series micro determination of carbon and hydrogen, in which use is made of the reduction of nitrogen oxides by copper. A detailed description is given of the conditions necessary to a quantitative oxidation of organic compounds in a current of air. The preparation of an especially active layer of copper is described, adequate for a day's run of fourteen determinations. In addition, interesting details are given of the course of the combustion.

Literatur.

- ¹ F. Kopter, Z. analyt. Chem. 17, 26 (1878).
- ² J. Lindner, Mikromaßanalytische Bestimmung des Kohlenstoffes und Wasserstoffes mit grundlegender Behandlung der Fehlerquellen in der Elementaranalyse. Berlin: Verlag Chemie. 1935. S. 133.
- ³ M. Boetius, Über die Fehlerquellen bei der mikroanalytischen Bestimmung des Kohlenstoffes und Wasserstoffes nach der Methode von F. Pregl. Berlin: Verlag Chemie. 1931. S. 52.
- ⁴ B. Wurzschnitt, Chem.-Ztg. 74, 19 (1950).
- ⁵ H. Roth, Methoden der organischen Chemie (Houben Weyl), 4. Aufl., Band 2 (Analytische Methoden). Stuttgart: Georg Thieme. 1953. S. 100.
- ⁶ H. Roth, l. c., S. 102.
- ⁷ J. Lindner, Ber. dtsch. chem. Ges. 65, 1696 (1932).
- ⁸ B. Wurzschnitt, Mikrochem. 36/37, 625 (1951).
- ⁹ J. Unterzaucher, Chem. Ing. Tech. 22, 39 (1950); siehe auch Mikrochem. 36/37, 712 (1951).
- ¹⁰ G. Kainz, Mikrochem. 35, 569 (1950); Mikrochem. 39, 166 (1952).
- ¹¹ O. G. Backeberg und S. S. Israelstam, Analyt. Chemistry 24, 1209 (1951).
- ¹² G. Mangeney, Bull. soc. chim. France 1951, 809.
- ¹³ J. Unterzaucher, Chem. Ing. Tech. 22, 128 (1950).
- ¹⁴ M. O. Korshun, Zhur. Anal. Khim. 7, 96 (1952).

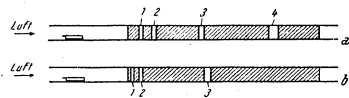


Abb. 1. a: Lage der Cu-Ringe verschiedener Substanzen in der CuO-Schicht bei 500°. (1): Anissäure, (2): Benzoesäure, (3): Perylen, (4): Fluorbenzol. b: Lage der Cu-Ringe von Benzoesäure in der CuO-Schicht bei verschiedenen Temperaturen. (1): bei 750°, (2): bei 650°, (3): bei 400°.

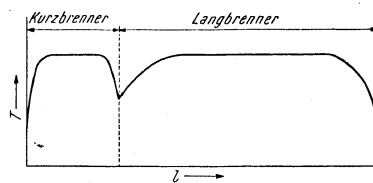


Abb. 2. Schlechte Ofencharakteristik.

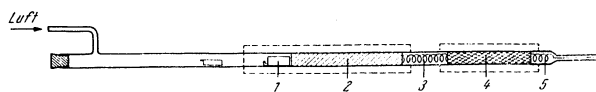


Abb. 3. Füllung Verbrennungsrohres. (1): Quarzhülse mit Ag-Wolle, (2): CuO-Schicht, (3): Silberspirale, (4): Cu-Schicht, (5): Silberspirale.

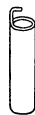


Abb. 4. Quarzhülse mit Ag- oder Cu-Wolle.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/33.

Zeilenanzahl: 812.

Research Laboratory, Courtaulds, Limited, Maidenhead, Berks.

Some Further Deliberations on the Rapid Combustion Procedure.

By

G. Ingram.

With 5 Figures.

(Received March 28, 1955.)

Five years have now elapsed since I last had the opportunity of presenting details of the rapid combustion procedure of ultimate organic micro-analysis to an international gathering of analytical chemists¹. During this intervening period the method has been extended to the determination of nitrogen in organic substances, and considerable informative data has been accumulated following the further routine use of rapid combustion methods for the determination of carbon and hydrogen, halogens and sulphur, and nitrogen by the new procedure. Some of this experimental work has been published, and I refer here to the apparatus constructed for the determination of halogens and of sulphur, together with some detail of their estimation after combustion of the organic material²; the apparatus and procedure for the determination of nitrogen³; and finally, some work carried out to establish other uses for the manganese dioxide in combustion methods of analysis⁴.

Almost eight years have passed since the technique of rapid combustion on the micro-scale was first developed on a satisfactory basis by the utilisation of the baffle chamber combustion tube. I feel that now is the appropriate time to present an assessment of the technique, to record some further interesting facts about it, and to describe certain changes in procedure, or in design of the basic apparatus made necessary in the light of experience gained.

Apparatus Design.

In the proto-type of apparatus the baffle chamber of the combustion tube was arranged in a vertical position in front of a boxed panel housing the flowmeter, scavenging train, and the furnace controls. While this arrangement produced a compact and symmetrical unit, it was found that the vertical furnace of the type required suffered a drawback, notably that the hot element coils, being also vertical, rapidly sagged in their alumina tube supports due to expansion, and because of the consequent localised heating the element fused under the greater heat produced. For this reason, and because a more simplified unit was required suitable for manufacture by makers of scientific apparatus, the components were rearranged in a different form.

The chamber furnace, the short furnace heating the roll of silver gauze within the outlet section of the combustion tube, and also the preheater furnace are now arranged to lie on top of a case of suitable dimensions. Within the case are housed the driving mechanism of the combustion burner, the scavenging tubes in their housing block, and the furnace controls.

The flowmeter originally described has now been replaced by a rotameter calibrated to indicate an oxygen flow-rate of 50 ml per minute.

The above alterations have been made to the halogen and sulphur combustion unit, and the rapid nitrogen estimation apparatus also has the furnaces assembled in a horizontal position.

The combustion tube design remains unaltered, but for the intro-

duction of a constriction in the vaporisation section where it is sealed to the baffle chamber. This slight modification prevents the layer of quartz wool situated in the tube from being pushed into the chamber at any time.

Carbon and Hydrogen Determination.

Combustion Procedure.

Little change in analytical procedure has been necessary. The combustion procedure as outlined in previous publications has been found highly satisfactory in every way, and at no time have incorrect results been obtained because the combustion technique involved has failed to convert completely all carbon and hydrogen into their oxidation products of carbon dioxide and water. In fact, by extending the combustion time by about 20 minutes it has been possible to determine carbon and hydrogen with samples of 10 to 30 mg, thereby placing the rapid method within the so-called "semi-micro" range of procedure. For this larger scale method it was necessary to use absorption tubes having tubular diameters of 7.5 to 8 mm.

Undoubtedly the success of this rapid combustion principle is entirely due to the design of the baffle chamber, in which complete oxidation of organic vapours take place by reason of the turbulent flow created by the baffle plates within the chamber. This turbulence effectively mixes the decomposing organic material with oxygen at a temperature of 900° C to promote quantitative conversion into carbon dioxide and water. At no time is there a high concentration of organic decomposition products in the chamber, because the condition of the combustion method is such that, owing to the fast oxygen flow, vapour is continuously entering the chamber highly diluted with oxygen. No matter what the combustion characteristic of a sample being burned, whether it is a high melting substance, a low melting one, or a volatile material, each will be vaporised with the utmost efficiency, because the initial heating of the substance within the sample container does control the decomposition rate of a particular sample. This control aspect of the combustion is no tedious task, for it permits the vaporisation of volatile substances like ether or carbon disulphide, and their quantitative oxidation to be completed within 10 minutes. I cannot name any other combustion method which would permit in this short time the total combustion of volatile samples. Certainly, the types of compound exemplified would not be combusted without some loss if subjected to the *Pregl* procedure in a similar combustion time.

It has been said, and I quote here from a recent publication by *Zacher*¹⁵ "that the so-called *rapid combustion method* should be considered in all seriousness and that, under certain conditions it will prove a most advantageous method". Let us examine for a moment the advantages in the light of further experience gained over the past five years. In my opinion, the most outstanding advantage is one of speed. In my laboratory with ideal balance conditions, we have been able to carry out complete analyses in 25 minutes with a repeatable accuracy of ± 0.05 per cent for carbon, and ± 0.1 per cent for hydrogen, these figures being related to theoretical percentages. The second advantage is one of manipulation simplicity. In this I refer to the principle of combustion, whereby no tube packing of auxiliary oxidant or catalyst is employed, needing the necessary periods of conditioning after packing as required in the *Pregl* method. Neither is lead dioxide used to retain nitrogen oxides. When a combustion unit has been left idle even for a month, it may be brought to a working condition within an hour once the furnaces have reached their operating temperatures. It is only necessary to replace the scavenging tube reagents. There is no need to refill the manganese dioxide absorption tube provided its connecting tubes have been kept closed out of contact with the atmosphere.

In 1950 the opportunity arose to test the method out at an instructional Summer School in Analytical Chemistry, organised by the London Section of the Royal Institute of Chemistry. At this course, 36 students, all analysts who had little or no previous experience of micro combustion work each had 4 hours only in which to practice the rapid combustion

method for carbon and hydrogen. The aim of the experiment was to see if the inexperienced could combust samples satisfactorily by the new technique. Experienced assistants carried out all weighings of samples and absorption tubes, since obviously the students would not learn the associated procedures in so short a time. Accordingly they only carried out the combustion and its associated manipulations. Each student was given notes of the method, and a demonstration analysis was performed in the first instance by the instructor. Then each student carried out 3 consecutive combustions, and in doing so, attached the weighed absorption tubes and inserted the sample in the combustion tube each time.

The result of this test was phenomenal in that 29 students combusted their samples correctly, obtaining carbon and hydrogen values within ± 0.3 per cent of the theoretical figures, 5 obtained results within 0.5 per cent, and the remaining 2 students' results were well outside the limits of error allowed.

The inference to be concluded from this test is that, unquestionably, the rapid combustion technique can be acquired in a very short time; in fact much more quickly than is possibly by any other method. Further confirmation of this point has been obtained since, and there is every indication that once the weighing and absorption tube wiping techniques have been mastered, beginners invariably obtain accurate results within a single working day. I have not known of a single case where a beginner has completely mastered the *Pregl* combustion technique in the matter of a few hours. Undoubtedly then, a third advantage over other methods is one of acquirability of combustion technique, and some analysts in the British Isles who have taken up micro-analysis for the first time have chosen the rapid combustion method for this reason, and the fact that the procedure is a simple and rapid one. Others who have practised the *Pregl* technique for some while have installed a rapid combustion apparatus in their micro laboratory. There are now more than a dozen laboratories operating the method for routine purposes with complete satisfaction. These users are associated with university, industrial, and research association laboratories, and Government laboratories. There is every indication that this number will increase in the near future now that suitable apparatus is being manufactured by a number of scientific apparatus makers. I know of isolated cases where beginners have failed at first attempts to substantiate some of the claims I have made regarding the method. These failures were traced either to faulty constructed apparatus, notably in the construction of the combustion tube, or to incorrect combustion technique. One user of the rapid combustion procedure⁶ has reverted to the *Pregl* procedure after some experience, but the method in question was that described by *Colson*⁷, which utilises a coil type of combustion tube, and lead dioxide for the retention of nitrogen oxides. This author found it necessary to insert an additional layer of lead dioxide between the absorption tubes because high carbon figures were obtained through some nitrogen oxides passing unabsorbed through the first layer of reagent. It was for the fact that large amounts of lead dioxide was required, that the previous worker stopped using the rapid method.

Nitrogen Oxide Removal.

The method of nitrogen oxide removal by external retention at room temperatures by means of manganese dioxide eliminates all the sources of error attributed to lead dioxide used for the same purpose in the *Pregl* method. It has been claimed by *Cropper*⁶ that manganese dioxide has a rather poor relative capacity of about 75 mg of nitrogen dioxide per 6 g of material. This author has recommended a preparation of lead dioxide made from lead acetate and sodium hypochlorite, which has a relative capacity of up to 1000 mg of nitrogen dioxide. Since it was found that different products of lead dioxide also had varying and sometimes poor relative capacities towards nitrogen dioxide, it may be assumed that the preparation of manganese dioxide tested was also of poor quality. According to *Cropper* therefore the inference is that manganese dioxide is not a good absorbent to use particularly in the rapid method because of its suspected short life. This opinion is contrary to use evidence with precipitated

material, the recommended reagent⁸, which has a reasonable length of life in the absorber containing about 2 g of manganese dioxide. The best product is obtained by treating a solution of manganese sulphate with ammonium persulphate⁹. It must be remembered too, when considering this question of nitrogen oxide retention that under rapid combustion conditions nitrogen oxide formation is in most cases only a fraction of the nitrogen contents of organic compounds. It has been shown recently⁴ that where nitrogen is linked to hydrogen or carbon in the molecule the percentage conversion is between 2 to 12 per cent, and generally not more than 0.2 mg of nitrogen dioxide is produced during combustion, an amount which appears to be independent of the nitrogen content or weight of sample taken. When linked to oxygen the percentage conversion to nitrogen dioxide is between 40 to 70 per cent. The mechanism of the reaction between manganese dioxide and nitrogen dioxide appears to be:



since a 96 per cent conversion to nitrogen dioxide was obtained on burning nitro-compounds over platinum in the rapid combustion apparatus. In these experiments the gas was absorbed by manganese dioxide in an absorption tube, and weighed.

Evidence accumulated over the past five years has revealed that the average life of a manganese dioxide filling of about 2 g in the special absorber is about 150 nitrogenous compounds. The records also show that only one conditioning combustion of a nitrogenous substance is required to prepare a new filling for actual analysis use. Further, in every case of reagent replacement, the tests carried out immediately following the one conditioning combustion have been correct to within ± 0.2 per cent for carbon. Only very occasionally has it been necessary to apply a blank correction to the carbon dioxide tube, and this invariably has been traced to another source and not to nitrogen dioxide passing the column of reagent in the absorber, as appears to be the case, according to Cropper, with lead dioxide.

The evidence presented indicates the enormous advantage offered by the use of manganese dioxide in combustion analysis. It can well compete with lead dioxide in all respects, since a properly selected reagent prepared as recommended^{8,9}, will not retain carbon dioxide; does not yield a significant "carbon blank" until its useful life has been passed; replacement and conditioning is accomplished in a fraction of the time (ca. 2 hours) required by lead dioxide, and of course replacement is afforded without the necessity of packing a new combustion tube.

Absorption of Carbon Dioxide and Water.

It seems that many microchemists do not favour the use of the *Flaschenträger* absorption tube because of the apparent danger of the stoppers becoming loose or being pulled out during wiping. While this possibility exists, it occurs only through careless handling of the tubes, or when the construction of the stoppers are faulty or not properly greased. For those who prefer it, *Pregl* absorption tubes may be used, but with the proviso that the bore-size of the capillaries of their connecting tubes are greater than the specified dimension of 0.25 mm. This is important, since too fine a bore of capillaries will cause some resistance in the gas flow. A bore-size of 0.30 ± 0.01 mm has been used with success, and tests have shown that the larger bore does not increase the diffusion potential. It is necessary to use a *Mariotte* bottle to off-set the resistance caused by the capillaries of the *Pregl* tubes.

Of equal importance, is the necessity to keep the capillary and bell chamber of the water absorption tube warm to prevent the condensation of water vapour at these two points. If condensation occurs, then some nitrogen oxides will be retained by the water to yield high hydrogen figures through the formation of nitric acids, which remain in the desiccant layer in the absorption tube. For the same reason on no account must cotton wool be used as the retaining plug for the desiccant, for the material will also retain water. Glass, or preferably quartz wool must be used in place of cotton.

In the previous discussion on the absorption of nitrogen oxides it was pointed out that the carbon blank was negligible, being never more than 0.01 mg unless carbon dioxide was passing the scavenging tubes. With the apparatus in my laboratory the water blank has ranged from 0.02 to 0.1 mg. Experience has traced this variable blank to a number of causes, but a particular value is definitely constant for a given desiccant filling in the scavenging tubes. For example, if a particular blank value was $+ 0.05$ mg, then this figure remained permanently so within ± 0.01 mg until the desiccant in the scavenging tubes became exhausted or was itself replaced by fresh reagent. Blank values above 0.05 mg have been traced to a temperature difference in air surrounding the scavenging tubes and the absorption tubes. The proto-type of apparatus afforded this difference by reason of the component layout, where the air in close approximation to the scavenging tubes was hotter by some 8° C. A second cause of the rather high blank values was traced to the use of water in the pressure regulator and in the flowmeter. With the new assembly where the flowmeter has been replaced by a rotameter to measure the oxygen flow, and by omitting the pressure regulator altogether, the blank for water has been reduced considerably. Since using the new apparatus a third source of water blank was apparent. It has been found that the state of the desiccant (magnesium perchlorate) greatly affects the blank value, for its efficiency towards water uptake varies from batch to batch of reagent. A very dry product has yielded a blank figure of not more than $+ 0.02$ mg which rose to 0.05 mg after the same batch of the reagent was allowed to come in contact with the atmosphere for a while to pick up water from the air. For the attainment of low blank values it is therefore essential that only fresh and extremely dry desiccant should be packed into the scavenging tubes, and of course in the water absorption tube. It has been possible to omit the pressure regulator by using a more efficient type of screw-clip to control the supply of oxygen to the apparatus.

It has been stated¹⁰ that wiping the absorption tubes has a tendency to cause high results, and that more accurate and equally precise results are obtained by not wiping the tubes before weighing. Accordingly, with the aim of speeding up the weighing time in the rapid method, this aspect of procedure has been examined using the *Flaschenträger* tubes. The results obtained in omitting full wiping of the tubes has confirmed that in fact elimination of the procedure tends to give more accurate and consistent carbon and hydrogen figures. The procedure now used consists of wiping the tubes fully prior to conditioning them at the start of a daily series of analyses. From then onwards they are handled with gloved hands and forceps, and only the connecting tubes and the knobs of the stoppers are wiped before weighing. The water tube is cleaned first as mentioned, and after opening the tap momentarily to release excess pressure within the tube, it is placed on the pan of the balance. The carbon dioxide absorption tube is treated in the same manner, and placed on a glass stand inside the case of the balance. The total time taken for this procedure is about 2 minutes. The water tube on the balance pan is counterpoised, and weighing commenced in 5 minutes time. The carbon dioxide tube may then be weighed. In this way it has been found that both tubes may be weighed within a total time of 10 minutes when the balance is sited in ideal conditions.

Conclusions.

The further experience gained in my own laboratory, and by certain other workers using the rapid method for the routine determination of carbon and hydrogen has provided ample proof of its reliability under all conditions. Without a doubt the rapid combustion procedure is far superior to any other method developed. This superiority is claimed on the grounds of rapidity and of simplicity, the results being as accurate as those obtained with the *Pregl* method. The procedure is less tedious as regards the combustion and maintenance of the apparatus. The principle involved permits the elimination of lead dioxide for the retention of nitrogen oxides, an important advantage in the light of the potential error source of the reagent. Use of manganese dioxide has proved a

highly efficient and simple means of nitrogen oxides removal, as it operates at room temperatures and externally in a readily replaceable absorber.

It has been shown that proficiency in the rapid method of combustion may be acquired in but a few hours practice, a notable consideration in University and Technical colleges, where it is considered an impracticable proposition to provide instruction in *Pregl* ultimate organic analysis because of the length of time necessary to gain the required efficiency.

A greater number of determinations may be carried out during a working day. Operating costs are considerably lower, fewer reagents are required, and time is saved servicing the apparatus. While the cost of the combustion tube is high, costing in the region of £12, the chamber section of the tube may be used indefinitely with proper care, for only is it necessary to replace the vaporisation and silver gauze sections of the tube when the occasion arises. One such baffle chamber of a combustion tube has served about 3000 analyses before it was discarded.

Determination of Halogens.

Recent work on the estimation of halogens has been mainly concerned with the potentiometric determination of chlorine and bromine following decomposition of the organic material in the rapid combustion apparatus². The amplified titration method of *Van der Meulen*¹¹ for bromine, by its oxidation to bromate, has also been used satisfactorily on the micro scale following the method of *Alicino et al.*¹². From this work and previous experience of titrimetric procedures it has been possible to arrive at certain conclusions regarding these finishes.

The argentometric method employing potentiometric indication of the end point has been studied in some detail for the reason of its possible advantages of quickness and simplicity of procedure. In the light of earlier experience of macro titrations, and later with published micro methods it was apparent that certain aspects of the procedure on the reduced scale needed examination. A criterion of a potentiometric procedure is that the potential-difference point should remain constant during a series of titrations. In routine work it would be particularly convenient to be able to set the potentiometer at the required potential derived previously from a calibration curve titration. Then simply to add titrant until the instrument indicates that the equivalence point has been reached. When titrating chlorine ion with silver nitrate in this manner, a variance of more than 3 millivolts from the potential-difference point introduces a considerable error. If it is necessary to plot a complete curve to obtain the equivalence point, or even to plot that part of it before and after the expected end point, i.e. by plotting E/V against volume of reagent added, then the procedure loses its value as a rapid method of finish.

Several potentiometric systems for titrating halogen with silver nitrate have been described for use on the macro scale and on the micro scale. The macro procedure of *Haslam and Soppet*¹³ was selected for study on the smaller scale because of its apparent simplicity. The electrode-pair used consisted of clean silver wire, the reference electrode of silver wire being immersed in an excess of silver ions in a solution made to contain 64 ml of a saturated solution of sodium sulphate, 6 ml of 2 N nitric acid, 30 ml of 0.1 N sodium chloride, and 30.1 ml of 0.1 N silver nitrate.

On the micro scale range of titration using the reference solution of *Haslam and Soppet* it was found that the potential of the system was not too reproducible, but varied during consecutive titrations. Part of the cause of this trouble was eventually traced to the fact that the solution on storage deposited crystals of sodium sulphate, and sulphate also crystallised out in the reference electrode solution tube. To overcome this source of error other reference solutions were examined, and one was eventually adopted which differed from the *Haslam and Soppet* solution in that a 1 N solution of sodium nitrate was used instead of the saturated solution of sulphate.

During the exploratory investigation two important points of procedure have emerged in the study of the potentiometric titration of halide,

which were found to influence the reproducibility of the potential, and hence the equivalence point of the titration. In the first place, it was found that the surface of the indicator wire should be clean and not be allowed to become coated with silver halide. If the surface is not bright then the potential of this indicator wire will not in consecutive determinations produce the correct equivalence points to within ± 0.03 ml of 0.01 N silver nitrate solution. After a series of titrations the silver coil must be wiped clean, polished, and left to soak in distilled water overnight. Before any further determinations a calibration curve should be prepared in the manner described later.

The second point that emerged was that the volume of solution must be constant, but more important still, the concentration of electrolyte in the solutions titrated must be very similar to the concentration in the calibration curve solution. It was found that unless controlled quantities of absorption solution were used, the potential variance was outside the range of ± 3 millivolts. Various absorption solutions for halogens were examined in order to find one most suitable for subsequent potentiometric titration with silver nitrate using the modified *Haslam and Soppet* reference solution. The absorption solution selected was a mixture of sodium bisulphite and hydroxide solutions, which absorbed quantitatively chlorine and bromine, produced as their free elements by the rapid combustion procedure. No evidence has been obtained that halogen acids or other oxidation halogen products other than the free elements are formed under the rapid combustion conditions.

The Titration Assembly.

The vessel for the titration solution is a tall-form 100-ml beaker provided with a graduation mark at the 40 ml volume. The beaker is supported in a retort ring clamped to a stand, which also supports the electrodes as illustrated in Fig. 1. The two electrodes are fixed in a split block of insulating material, which is attached to the stand by means of a metal rod and clamp permitting its adjustment in a vertical direction.

The silver indicator electrode is made from 0.05 inch diameter wire coiled for 4 turns, about 5 mm in internal diameter, which is immersed in the halide solution. The free end of the wire is provided with a terminal and a length of screened wire to connect the electrode to the positive terminal of the potentiometer.

The reference solution is contained in the type of tubular vessel supplied by the Cambridge Instrument Company, which is provided with a ground-glass sleeve at its lower end to make contact in the titration vessel. Its silver wire electrode is coiled as shown and passes up through a piece of capillary tube, which is positioned in the mouth of the tubular vessel with a rubber bung. The silver wire required has a thickness of 0.05 inch. Its free end is provided with a terminal and is attached to the negative terminal of the potentiometer with screened wire.

During a titration the solution is stirred effectively by means of a moderate stream of air, this being the better form of agitation. The air delivery tube is held in the insulating block.

The potentiometer used in this work was a Cambridge battery operated pH meter provided with a millivolt range.

Reagent Solutions.

Reference electrode solution. 64 ml of 1 N sodium nitrate, 6 ml of 2 N nitric acid (prepared from M. A. R. concentrated acid), 30 ml of 0.1 N sodium chloride, and 30.1 ml of silver nitrate are mixed together. The precipitate is allowed to settle, and the clear solution is decanted into a brown-glass bottle.

Halogen absorption solution. 3 ml of a 35% w/w sodium bisulphite solution (M. A. R.) are mixed with 6 ml of 1 N sodium hydroxide solution. This amount of reagent will suffice for about 3 determinations.

Hydrogen peroxide. 100 vol. M. A. R.

Standard solutions. 0.01 N solutions of silver nitrate, sodium chloride or sodium bromide.

Nitric acid. 1 N solution prepared from M. A. R. acid.

Sodium hydroxide. 1 N solution.

Methyl red. 1% solution.

Analysis Procedure.

The tubular vessel is filled with reference electrode solution, preferably some hours before carrying out titrations, and a little of the liquid allowed to drain out through the hole situated at the lower end of the tube. This is performed by easing the ground-glass sleeve, and its surface then becomes wetted with the solution. A titration vessel is filled to the mark with distilled water, and both electrodes are immersed in it for some hours. The calibration curve titration may then be carried out.

Calibration titration. 2 ml of the halogen absorption solution and 20 ml of distilled water are measured into the titration beaker together with an accurately measured quantity (3 to 5 ml) of the standard halide solution. 2 to 3 drops of methyl red indicator, and 7 to 8 drops of 100 vol. M. A. R. hydrogen peroxide are added to the mixture with stirring, to destroy the bisulphite. The resulting acid solution is now neutralised with 1 N sodium hydroxide added dropwise from a pipette. Then 2 drops more of hydrogen peroxide are added, which should produce no further acidity, indicating that all the bisulphite has been removed. It is important that all the bisulphite is destroyed, for its presence during a titration alters the potential difference by some few millivolts. Finally, the glass stirring rod is rinsed down into the beaker with distilled water, and more water is added to bring the volume in the beaker to 40 ml.

The electrodes are raised from the beaker containing water, which is removed and replaced by the titration beaker containing the halide solution. The electrodes are lowered into the solution, air is bubbled through it, and 2 drops of 1 N nitric acid are added to the solution. After waiting about 1 minute, the potentiometer is adjusted, but before commencing the titration it must be ascertained that the electrode system has settled down completely. When this is so, silver nitrate is added in 0.2 ml increments, reading off the potential after each addition, until almost all the required volume of titrant (to within 1 ml) has been added. Then the increments are reduced to 0.1 ml volumes until the equivalence point has been passed as shown by the rise in potential. Finally, the silver nitrate increments are increased to 0.2 ml until a further 2 ml of titrant has been added. The potential difference corresponding to the equivalence point is then derived from a curve constructed by plotting potential changes against volumes of silver nitrate. Typical curves are shown in Fig. 2 in which sodium chloride and sodium bromide was titrated with 0.01 N silver nitrate solution.

Estimation of halogen in organic compounds. The absorption solution consisting of 3 ml of bisulphite solution and 6 ml of 1 N sodium hydroxide is transferred from a 10 ml measuring cylinder to the bead absorber, and the bead surfaces wetted with the reagent. Then 7 ml are run out through the tap into the cylinder, leaving 2 ml of the solution in the absorber. Thus charged, the absorber is attached to the combustion apparatus and the sample is burned in the manner described in a previous paper².

On completion of the combustion the absorber is disconnected as described, and its contents are rinsed out with distilled water into the titration beaker. About 30 ml of combined liquid should be collected. The halide solution is now treated with 7 to 8 drops of 100 vol. hydrogen peroxide to destroy the excess of bisulphite, it is neutralised with 1 N sodium hydroxide, then made slightly acid with 1 N nitric acid, and the volume made up to 40 ml with distilled water. This sequence of operations is carried out in the same manner as described above for the calibration curve. The titration beaker is next placed in the ring stand, the electrodes are lowered into the solution, and the titration with silver nitrate carried out until the potentiometer reading indicates by the potential obtained, that the equivalence point has been reached.

Results for halogen (chlorine and bromine) decomposed by the rapid combustion procedure, and the estimation completed by the potenti-

metric procedure described has given results to within ± 0.3 per cent of the theoretical figures. A typical curve obtained following the combustion of 3.851 mg of p-chlorobenzoic acid is shown in Fig. 3. The percentage chlorine found was 22.42, the theoretical being 22.65 per cent.

Determination of Trace Amounts of Halogen.

As it was established that halogen could be determined satisfactorily by the potentiometric method, attention was next directed to the titration of even smaller amounts of halogen, quantities which would fall in the ultramicro range. For this work the modified *Haslam and Soppet* electrodes were adopted to operate with a volume of 2 ml or less of halide solution. The object of this investigation was to attempt the determination of trace quantities of halogen, notably chlorine, using but 10 to 15 mg of sample in the rapid combustion apparatus. This part of the paper reports the preliminary work only, namely the potentiometric estimation of chlorine in a simple halide solution in the concentration range of 0.01 to 0.1 mg of Cl.

Titration Apparatus.

The electrode system developed for the titration of 0.1 mg or less of chlorine is shown in Fig. 4. The reference silver wire (0.025 inch in diameter) is immersed in a piece of 3.5 mm bore glass tubing, 50 mm long, which is drawn down to a capillary taper 25 mm long. Conduction is obtained by sealing in the capillary tip a short asbestos fibre as described by *Dole*¹⁴. The reference solution used for milligram analysis is employed, and is placed in the tube with a capillary pipette. Air bubbles in the capillary tube above the asbestos fibre is removed by means of suction applied at the narrow end. The indicator silver wire is made from an 85 mm length of 0.05 inch diameter wire. Both electrodes are clamped in a split block of insulating material which is fixed to a stand by a rod provided with an arrangement to permit vertical adjustment.

The titration beaker had a capacity of 5 ml. Stirring was accomplished by means of a fine stream of air bubbles. For the titration, 0.01 N silver nitrate solution was employed, being delivered from a 0.5-ml syringe burette. The Cambridge pH meter was employed to measure the potential during the titrations.

Results.

The graph given in Fig. 5 was obtained by titrating 0.077 mg of sodium chloride in a 2 ml volume containing 0.03 ml of 1 N nitric acid. As was to be expected, the potential reproducibility was not too good, being variable over a range of ± 10 millivolts. However, excellent reproducibility of results was obtained by plotting a curve for each titration, and agreement to within ± 0.0002 mg Cl was obtained.

Conclusions.

The potentiometric procedure is superior to other titrimetric methods for routine analysis where a large number of chlorine and bromine determinations must be carried out daily. It can be applied to substances containing either sulphur or nitrogen, or both, and when mixed halogens are present in the sample.

The mercuric oxycyanide method^{15, 16} following the recent modified procedure of *Belcher, Macdonald and Nutten*¹⁷ for chlorine is also recommendable, but it is more time consuming than the potentiometric titration with silver nitrate. However, for occasional estimations of chlorine and bromine the mercuric oxycyanide method is perhaps more convenient.

Bromine, when present in amounts below 10 per cent, and when the quantity of sample is too limited to be able to take a larger weight of substance than is normally used, is better estimated by the amplified method of *Van der Meulen*¹¹ adopting the procedure of *Alicino, Crickenberger and Reynolds*¹², but using a 50 per cent solution of sodium formate¹⁷ to destroy the excess of hypochlorite used to oxidise the bromine to bromate. For these estimations it is necessary to use a strong solution of hydrogen peroxide in the absorber, otherwise some halogen will be lost. The absorber is best charged with 2 ml of 30 vol. hydrogen peroxide,

or weaker peroxide may be used combined with 1 N sodium hydroxide in the proportion of 2 parts peroxide to 6 parts sodium hydroxide. Prior to estimation of the bromine the excess hydrogen peroxide must be destroyed by means of platinum black deposited on platinum foil. For chlorine, it is only necessary to boil the solution before titration.

The best method for estimating iodine is to absorb the combustion products in 1 N sodium hydroxide, and to determine the iodine by the *Leipert* method¹⁸, by its oxidation to iodate with bromine, completing the estimation by liberation of iodine after addition of potassium iodide, which is titrated with standard thiosulphate solution.

With regard to the determination of trace amounts of chlorine, bromine and iodine in organic compounds, the use of amplification procedures for bromine and iodine would appear to facilitate their estimation following a rapid combustion decomposition. Chlorine is much more difficult to determine utilising an amplification procedure. This aspect has been examined by *Belcher* and *Goulden*¹⁹, but would not appear to be very accurate for trace determinations, i. e. for amounts of chlorine below 0.1 mg. The potentiometric method appears very promising and work is continuing to place the method on a satisfactory basis using the rapid combustion procedure to decompose the sample. The method proposed is to collect the halogen combustion products in the absorber with hydrogen peroxide in the normal way, to concentrate the solution after neutralisation with alkali, and to titrate the resulting halide with silver nitrate by the method already described.

Determination of Sulphur.

Sulphur is rapidly and accurately determined by the rapid combustion procedure when the samples contain no other acid producing element, by converting the sulphur combustion products to sulphuric acid by means of hydrogen peroxide, and to titrate the acid so formed with standard 0.01 N alkali. When halogen or nitrogen are present in addition to sulphur, the simple titration procedure cannot be used. When this is the case it is usual to proceed to the gravimetric finish with all its disadvantages. While such mixtures can be dealt with by indirect titration methods, or by using the recent 4-amino-4'-chlorodiphenyl complex titration method for sulphate ion developed by *Belcher*, *Nutten* and *Stephen*²⁰, a more rapid direct method would be an advantage. The classical method of *Dannstedt* of absorbing sulphur oxides on heated silver provides a rapid and simple method of approach when combined with a titration finish. Some micro scale methods have been described which are based on the *Dannstedt* principle. *Huffmann*²¹ for example absorbed the sulphur products on silver, dissolved off the sulphate compound and precipitated the silver electrolytically and weighed it. *Belcher* and *Spooner*²² in their rapid combustion method estimated sulphur by determining the weight of silver before and after extraction of the silver sulphate. Later *Stragand* and *Safford*²³ adopted the direct weighing procedure when halogen was absent, and when halogen was present they extracted the silver sulphate and reweighed. *Zinneke*²⁴ has used a titration finish in the estimation of the silver sulphate extracted from the silver, but this may be subject to error by reason of the titration method employed.

Argentometric titration would seem rapid when used in combination with potentiometric identification of the equivalence point. This method has been examined in conjunction with combustion of the sample in the rapid combustion apparatus, and was carried out in collaboration with Mr. G. Crouch, of the School of Pharmacy, London University, Great Britain. Very likely a fuller report will be published later following further work in collaboration with my colleague Dr. *Belcher* of the Birmingham School.

Principle of the Method.

The sample containing sulphur is combusted in the carbon and hydrogen rapid combustion apparatus, using a new tube for the purpose. The sulphur combustion products are retained by silver in the form of

two rolls of gauze attached together by silver wire, which are inserted in the combustion tube in the usual position. The silver is maintained at 650° C by the short electric furnace. After combustion the silver is removed from the tube and placed in a beaker containing water, and the sulphate is extracted by boiling for several minutes. The cooled solution is then titrated with standard sodium chloride solution using the potentiometric procedure previously described for halogen.

Method of Analysis.

The silver gauze rolls each 35 to 40 mm in length are joined together by fine silver wire so that they both will lie on the bottom of the 100-ml titration beaker. The rolls should fit snugly in the combustion tube. The silver rolls are soaked in ether, dried, and ignited in a stream of oxygen, and when cool are inserted into the combustion tube through the ground-jointed end usually closed by the tube beak. A used silver gauze roll is cleaned before using again to remove silver halide adhering to the metal surfaces, by warming with ammonia, then water, and again igniting in oxygen in a piece of combustion tube.

For an analysis, the prepared gauze in the tube is brought to its operating temperature of 650° C, the sample is introduced, and combusted in the normal rapid way. After the usual combustion time of 10 minutes it is necessary to continue heating and sweeping out with oxygen at the rate of 50 ml per minute for a further 30 minutes, because experience has shown that the results are persistently 0.3 per cent lower than theoretical unless this sweeping period is adopted.

The silver with its adhering silver sulphate is removed from the tube and placed in the titration beaker along with about 30 ml of distilled water. The contents are boiled for about 5 minutes, then the beaker is placed in a tray through which tap water is circulating, until the contents of the beaker are cooled to room temperature. The volume of the solution is made up to 40 ml with water, the beaker is placed in the ring stand with the electrodes immersed, and the silver titrated with 0.01 N sodium chloride. A calibration curve is obtained by titrating a few milligrams of pure silver sulphate in the same volume of distilled water, from which the potential equivalence point is derived for consecutive titrations.

Results.

While it was ascertained that the method yields satisfactory results only by extending the normal sweeping out period, it was found that eventually the results became increasingly lower after a dozen estimations had been carried out, the error being -0.5 to 1.0 per cent from the theoretical values. No sulphur dioxide could be found in the exit gases from the combustion tube, and all the silver sulphate was being extracted from the silver gauze. An examination of the combustion tube section containing the silver gauze yielded evidence of the presence of a soluble silver salt deposited on the inner surface of the quartz tubing. Since no halogen containing compounds had been analysed this was hard to understand. It was thought that some of the silver sulphate was being volatilised, but lowering the temperature of the gauze did not improve matters.

Conclusions.

Undoubtedly the best method for sulphur estimation as regards simplicity and rapidity is the direct titration of sulphuric acid, formed by absorption of the sulphur combustion products in neutral hydrogen peroxide. When halogen or nitrogen, or both are present with sulphur the method described by *Belcher, Nutten and Stephen*²⁰ is to be recommended in preference to any other indirect method. In the method, the contents of the absorber are rinsed out into a conical beaker, treated with a solution of 4-amino-4'-chlorodiphenyl hydrochloride to yield the corresponding insoluble sulphate complex. This is filtered off, washed free from supernatant liquor, transferred back to the beaker, and after bringing to the boil, the mixture is titrated with standard 0.02 N alkali using a mixed indicator of phenol red and bromothymol blue.

Determination of Nitrogen.

The method described recently³ for the determination of nitrogen in organic compounds based on the rapid combustion procedure is still being used in my laboratory. It is as yet too early to assess the method as one is able to do with the other methods which are now established. Satisfactory quartz tubing is now available and a full study of the method is being undertaken.

Summary.

The writer considers, now that about eight years has elapsed, since the rapid combustion procedure of ultimate organic analysis was first developed on a satisfactory basis, that it is appropriate to present an assessment of the technique. It is claimed that by adopting the baffle chamber type of combustion tube a method of analysis has been advanced which is superior to any other developed. In the case of the carbon and hydrogen method this superiority is claimed on the grounds of rapidity and of simplicity, the results being as accurate as those obtained with the notable *Pregl* method. Its use by many microchemists in Great Britain for routine analysis is ample proof of its reliability under all conditions. The advantages are discussed in some detail in the light of experience gained by the author over the past five years. It is shown that the procedure, being less tedious, permits beginners to become proficient in the operation of the method in but a few hours. Use of manganese dioxide for the retention of nitrogen oxides has proved an efficient and simple means of eliminating the troublesome lead dioxide reagent. One filling weighing approximately 2 g will have an active life of about 150 combustions of nitrogenous compounds. Finally, many more analyses may be carried out in a working day at considerable less cost.

Other interesting facts about the rapid methods are given, together with a description of some changes in procedure, or in design of the basic apparatus made necessary in the light of further experience.

The merits of the potentiometric method for halogens are discussed, and a suitable method is described which has been used for 2 years or more by the author. Conditions have been established whereby it is possible to carry out consecutive silver nitrate titrations utilising the potentiometric indication of the equivalence point without fear of potential drift during a series of determinations.

Details of work being carried out to establish a similar method for trace amounts of chlorine in the range 0.01 to 0.1 mg following rapid combustion of the sample, is described briefly. Recommendations are made concerning methods for the determination of chlorine, bromine and iodine following rapid combustion of the organic substances.

Similar discussion of the methods of finish for sulphur is presented. A description of a potentiometric finish is given, which is based on the method of absorbing the sulphur combustion products on hot silver, the silver sulphate formed being extracted and titrated with sodium chloride solution. The method has given satisfactory results but the sulphur figures tend to become low after awhile for an unexplainable reason.

Zusammenfassung.

Seit der Ausarbeitung des Schnellverfahrens der organischen Elementaranalyse zu einer zufriedenstellenden Methode sind acht Jahre vergangen. Es scheint somit angezeigt, über den derzeitigen Stand dieser Methode zu berichten. Es wird hervorgehoben, daß durch die Anwendung des Gegenstromverbrennungsrohres ein den bisherigen überlegenes Analysenverfahren entwickelt wurde. Im Falle der C-H-Bestimmung beruht diese Überlegenheit auf der Schnelligkeit und Einfachheit, wobei die Analysenergebnisse ebenso genau sind, wie die des bekannten *Pregl*schen Verfahrens. Seine verbreitete Anwendung unter den Mikrochemikern Großbritanniens für Zwecke der Routineanalyse ist ein guter Beweis für seine Verwendbarkeit unter allen Bedingungen. Seine Vorteile werden hinsichtlich einiger Einzelheiten im Lichte der in den letzten fünf Jahren seitens des Verfassers gewonnenen Erfahrungen besprochen. Dabei wird gezeigt, daß dieses Verfahren, da es weniger mühsam ist, den Anfänger schon in wenigen Stunden zum Erfolg führt. Die Verwendung von Mangandioxyd zur Entfernung der Stickstoff-

oxyde hat sich als ein wirksames und einfaches Mittel erwiesen, um das oft störende Bleidioxid zu vermeiden. Eine Füllung von etwa 2 g reicht für ungefähr 150 Verbrennungen stickstoffhaltiger Substanzen. Schließlich können pro Tag wesentlich mehr Analysen bei geringeren Betriebskosten ausgeführt werden.

Einige Änderungen des Verfahrens, der Konstruktion des Apparats, die sich aus der Erfahrung ergeben haben, und andere wichtige Umstände des Schnellverfahrens werden mitgeteilt.

Die Vorteile der potentiometrischen Methode zur Halogenbestimmung werden besprochen und eine vom Autor seit mehr als zwei Jahren angewendete Arbeitsweise beschrieben. Es wurden Bedingungen festgelegt, unter denen es möglich ist, unter Verwendung der potentiometrischen Endpunktanzeige serienmäßige Silbernitrat titrationen auszuführen.

Zur Bestimmung von Chlorspuren in der Größenordnung von 0,01 bis 0,1 mg durch Schnellverbrennung der Probe wird kurz dargelegt. Außerdem werden Angaben über die Bestimmung von Chlor, Brom und Jod in organischen Substanzen nach dem Schnellverfahren gemacht.

Die Auswertung von Verbrennungsmethoden zur Schwefelbestimmung auf photometrischem Wege, die auf der Absorption der Verbrennungsprodukte des Schwefels durch Silber in der Hitze beruht, wobei das gebildete Silbersulfat extrahiert und mit Natriumchlorid titriert wird, wird beschrieben. Dieses Verfahren gibt zufriedenstellende Resultate, aber die Schwefelwerte zeigen nach einiger Zeit aus bisher unbekannten Gründen die Tendenz, zu niedrig zu werden.

References.

- ¹ G. Ingram, *Mikrochim. Acta* **36/37**, 690 (1951).
- ² R. Belcher and G. Ingram, *Analyt. Chim. Acta* **7**, 319 (1952).
- ³ G. Ingram, *Mikrochim. Acta* [Wien] **1953**, 131.
- ⁴ G. Ingram, *Mikrochim. Acta* [Wien] **1953**, 71.
- ⁵ M. K. Zacherl, *Mikrochim. Acta* [Wien] **1954**, 722.
- ⁶ F. R. Cropper, *Mikrochim. Acta* [Wien] **1954**, 25.
- ⁷ A. F. Colson, *Analyst* **73**, 541 (1948).
- ⁸ R. Belcher and G. Ingram, *Analyt. Chim. Acta* **4**, 401 (1950).
- ⁹ O. Clemser, *Ber. dtsh. chem. Ges.* **72B**, 1879 (1939).
- ¹⁰ O. L. Ogg, C. O. Willits, O. Ricciuti, and J. A. Connelly, *Analyt. Chemistry* **23**, 911 (1951).
- ¹¹ J. H. van der Meulen, *Chem. Weekbl.* **28**, 238 (1931); **31**, 558 (1934).
- ¹² J. F. Alicino, A. Crickenberger and B. Reynolds, *Analyt. Chemistry* **21**, 755 (1949).
- ¹³ J. Haslam and W. W. Soppet, *J. Soc. Chem. Ind.* **67**, 33 (1948).
- ¹⁴ M. Dole, *The Glass Electrode*. New York: Wiley. 1941. p. 117.
- ¹⁵ F. Vieböck, *Ber. dtsh. chem. Ges.* **65B**, 496 (1932).
- ¹⁶ G. Ingram, *Analyst* **69**, 265 (1944).
- ¹⁷ R. Belcher, A. M. G. Macdonald and A. J. Nutten, *Mikrochim. Acta* [Wien] **1954**, 104.
- ¹⁸ Th. Leipert, *Mikrochim. Acta* [Wien] **3**, 147 (1933).
- ¹⁹ R. Belcher, and R. Goulden, *Mikrochim. Acta* [Wien] **1953**, 290.
- ²⁰ R. Belcher A. J. Nutten and W. I. Stephen, *Mikrochim. Acta* [Wien] **1953**, 51.
- ²¹ E. W. D. Huffmann, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **12**, 53 (1940).
- ²² R. Belcher and C. E. Spooner, *J. Chem. Soc. London* **1943**, 313.
- ²³ G. L. Stragand and H. W. Safford, *Analyt. Chemistry* **21**, 625 (1949).
- ²⁴ F. Zinneke, *Z. analyt. Chem.* **182**, 175 (1951).

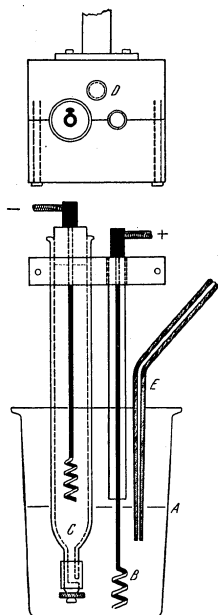


Fig. 1. A. 100-ml-Beaker.
B. Indicator electrode.
C. Reference electrode.
D. Air delivery tube.
E. 5-ml-micro-burette.

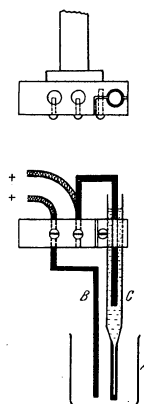


Fig. 4. A. 5-ml-Beaker.
B. Indicator electrode.
C. Reference electrode.

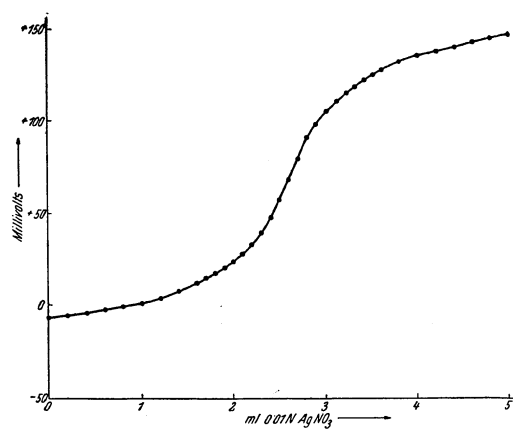


Fig. 2A. Chloride Curve. Titration of 0.940 mg Cl. Found — 0.932 mg Cl.

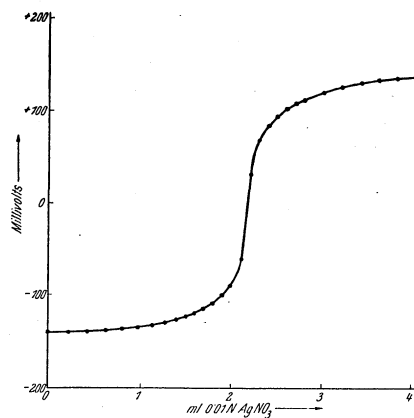


Fig. 2 B. Bromine Curve. Titration of 0.173 ml Br. Found — 0.172 ml Br.

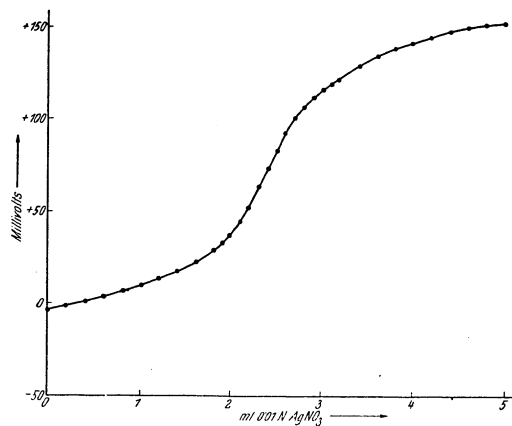


Fig. 3. Chloride Curve.

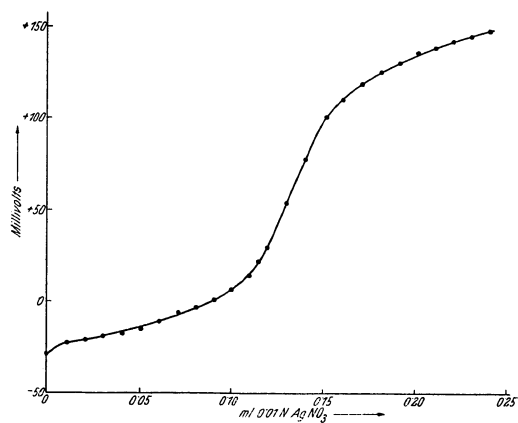


Fig. 5. Titration of 0.047 mg Cl in volume of 2 ml.

Eidgenössische Milchwirtschaftliche Versuchsanstalt Liebefeld, Bern.

**Die mikrochemische Jodbestimmung in Milch
und Milchprodukten.**

Von

H. Hänni.

(Eingelangt am 20. März 1955.)

Nachdem schon vor vielen Jahren *Fellenberg*¹ die wichtigsten Lebensmittel auf ihren Jodgehalt geprüft hatte und es schien, daß auf diesem Gebiete wenig mehr zu erkunden sei, erwachte doch in letzter Zeit das Interesse am Jodgehalt in der Milch und den daraus hergestellten Produkten von neuem. Als in der Schweiz das Kochsalz zur Kropfprophylaxe allgemein mit einem geringen Zusatz von Kaliumjodid in den Handel gebracht wurde, zeigten sich gewisse Bedenken, daß die Verwendung dieses Jodsatzes bei der Käseherstellung zu unliebsamen Störungen führe. Obgleich es höchst unwahrscheinlich ist, daß der sehr geringe Kaliumjodidgehalt von 0,0005% im Salz irgendeinen Einfluß auf die Gärungsvorgänge im Käse ausüben kann, sind bis zum heutigen Tag die Klagen über Fehlergebnisse nicht ganz verstummt. Es stellt sich deshalb das Problem, die Verhältnisse durch genaue Jodgehaltsbestimmungen abzuklären.

Nun gibt es eine ganze Reihe von sehr gut ausgearbeiteten Verfahren zur Jodbestimmung, die meist im Hinblick auf die Kenntnis des Jodgehaltes im Blut geschaffen wurden. Die Hauptschwierigkeit des Jodnachweises liegt immer bei der Zerstörung der organischen Begleitstoffe, die so ausgeführt werden soll, daß keine Jodverluste dabei in Erscheinung treten. Hier wirkt sich besonders die Tatsache unliebsam aus, daß das Element Jod seine chemische Wertigkeit sehr leicht ändern kann. Es kann je nach den Umgebungsbedingungen sowohl in der negativ einwertigen, als auch in der positiv fünfwertigen Form auftreten und durchläuft bei Oxydations- und Reduktionsvorgängen immer die nullwertige Zwischenform, in der es als elementares Jod sehr leicht flüchtig ist. Diese Erscheinung kann nicht nur bei der Zerstörung der organischen Substanz zu Jodverlusten führen, sondern ebenso bei der nachfolgenden Anreicherung kleiner Jodmengen vor der eigentlichen Bestimmung.

Die *Fellenbergsche* Methode, wobei die zu untersuchende Substanz mit Kaliumhydroxyd und Kaliumcarbonat aufgeschlossen wird, führt leicht zu Verlusten, weil zur vollständigen Verkohlung die Temperatur der Mischung so weit gesteigert werden muß, daß das gebildete Kaliumjodid sich teilweise verflüchtigt.

*Schwaibold*² hat die jodhaltige Substanz in Supremaxrohren im Sauerstoffstrom verbrannt und die gebildeten flüchtigen Jodverbindungen in Kaliumcarbonatlösung aufgefangen. Bei unseren Versuchen, Milch und Käse nach dieser Art aufzuschließen, entstanden stets sehr große Mengen von Teer, Pech und Wasser, die die weitere Isolierung des Jods unmöglich machten und schließlich zum Bruch des Rohres führten.

*Feiffer*³ hat die viel bequemere nasse Veraschung gewählt. Die zu untersuchende Substanz wird in einem großen Rundkolben durch konzentrierte Schwefelsäure verkohlt. Aus einem Tropftrichter fließt langsam Perhydrol zu. Das Jod entweicht in elementarer Form oder als Jodwasserstoff, passiert einen glühenden Platinkontakt und wird in Kaliumcarbonatlösung absorbiert. Auch diese Methode gab bei unseren Versuchen keine brauchbaren Ergebnisse. Bei der Zersetzung der Käsemasse trat eine große Menge von flüchtigen Fettsäuren auf, die die Isolierung und

Anreicherung des Jods störten.

*Leipert*⁴ gab im Jahre 1933 ein anderes Verfahren an, das ebenfalls auf der Grundlage der nassen Veraschung beruht. Die Substanz wird dabei mit Schwefelsäure, Chromsäure und etwas Cerisulfat versetzt. Es tritt eine stürmische Reaktion ein, wobei die organische Substanz vollständig zerstört und das Jod in die positiv fünfwertige Form, nämlich zu Jodsäure, die nicht flüchtig ist, oxydiert wird. Hierauf wird in einer besonderen geschlossenen Apparatur mit arseniger Säure reduziert und das freiwerdende Jod mit Wasserdampf in eine Vorlage übergetrieben, wo es in alkalischer Flüssigkeit aufgefangen wird. Dieses Verfahren wurde mehrfach abgeändert und verbessert.

Den größten Fortschritt brachten wohl die Arbeiten von *Zacherl* und *Stöckl*⁵, die die Methode vom Blindwert befreiten und eine vereinfachte, sehr wirksame Destillationsapparatur schufen. Das *Leipertsche* Verfahren, besonders in der Abwandlung nach *Zacherl* und *Stöckl*, erschien ganz besonders dienlich zur Lösung unserer Probleme. Die vollständige Zerstörung der organischen Substanz gelang mit dem Chromsäure-Schwefelsäure-Gemisch leicht. Wider alles Erwarten wurden aber stets zu kleine Jodwerte gefunden. Selbst wenn bekannte Mengen Jod in reiner Form nach der angegebenen Vorschrift behandelt wurden, ließ sich oft davon nur ungefähr die Hälfte wiederfinden. Es zeigte sich dann, daß bei der Reduktion mit arseniger Säure der größte Teil des Jodates in Jodwasserstoff übergeführt wurde und daß diese Verbindung nur bei sehr lange dauernder Destillation einigermaßen quantitativ in die Vorlage übertrat. Die weitgetriebene Destillation führte aber leicht zu einer Zersetzung der Schwefelsäure, wobei Dämpfe von Schwefeldioxyd in der Vorlage auftraten, die die weitere Verarbeitung ihres Inhaltes unmöglich machten.

Es zeigte sich nun nach vielen Versuchen, daß die Verhältnisse sofort günstiger wurden, wenn Kaliumpermanganat in schwefelsaurer Lösung nach *Riggs* und *Man*⁶ zum Oxydieren und Zerstören der organischen Substanz und phosphorige Säure zur darauffolgenden Reduktion und Destillation zur Anwendung kamen. Der Oxydationsmischung zugesetzte bekannte Jodmengen wurden ohne lange Versuche sofort quantitativ wiedergefunden. Eine Schwierigkeit bestand vorerst noch darin, daß mit Kaliumpermanganat die Fettstoffe nicht aufgeschlossen werden konnten. Nun zeigte sich aber die Möglichkeit, einen alkalischen Vorauflösung bei verhältnismäßig niedriger Temperatur vorzunehmen, wobei die Fettstoffe weitgehend zersetzt wurden, so daß eine verhältnismäßig geringe Menge Kaliumpermanganat zur vollständigen Oxydation der Kohle ausreichend war.

Auf Grund dieser Erfahrungen und Überlegungen entstand die nachfolgend angegebene Vorschrift zur Jodbestimmung in schwer aufschließbaren Stoffen.

Arbeitsvorschrift.

Reagenzien:

- Kaliumcarbonat oder -hydroxyd, p. a.,
- Natriumcarbonat, p. a.,
- Kaliumpermanganat, p. a.,
- Schwefelsäure, p. a., 18-n,
- Schwefelsäure, p. a., 6-n,
- Phosphorige Säure, ca. 50%ig,
- Brom-Eisessig-Acetat-Lösung (nach *Zacherl* und *Stöckl*): 25 g Natriumacetat in 250 ml Eisessig + 1 ml Brom p. a.,
- Kaliumjodidlösung, p. a., 2%ig,
- Reagenslösung I: 0,9 g Sulfanilsäure in etwas warmem Wasser lösen. Nach Abkühlen 2,5 g Hydroxylaminsulfat und 30 ml Eisessig zufügen und auf 150 ml auffüllen.
- Reagenslösung II: 150 mg α -Naphthylamin, p. a., in kaltem Wasser lösen, 30 ml Eisessig zusetzen und auf 150 ml auffüllen.

Der Aufschluß.

5 g gut zerkleinerter Käse — bei anderen Stoffen ist das Vorgehen sinngemäß das gleiche — werden in eine Nickelschale eingewogen und

mit 10 g eines Gemisches aus gleichen Teilen Natrium- und Kaliumcarbonat versetzt. Man fügt soviel Wasser zu, daß ein dünner Brei entsteht, rührt mit einem Nickelstäbchen gut durch und läßt auf dem Wasserbad zur Trockne eindunsten. Hierauf erhitzt man die Schale vorsichtig über freier Flamme, so daß die organische Substanz langsam verkohlt. Wenn kein Rauch mehr entweicht, steigert man die Temperatur auf dunkle Rotglut und rührt mit dem Nickelstab gut durch, wobei die abgeschiedene Kohle mit dem schmelzenden Alkali innig vermischt werden soll. Es ist durchaus nicht nötig und unvorteilhaft, die schwarze Masse durch langes Erhitzen vollständig zu oxydieren, da die Kohle bei der nachfolgenden Behandlung mit Permanganat mit Leichtigkeit vollständig zerstört wird. Der Rückstand wird mit möglichst wenig warmem Wasser gelöst und in den bei der späteren Destillation benützten Kolben übergespült.

Jetzt wird die alkalische Lösung mit 2 g Kaliumpermanganat versetzt. Sobald sich dieses gelöst hat, fügt man vorsichtig unter Umschwenken 100 ml 18-n Schwefelsäure zu und führt die vollständige Oxydation der Kohle durch, indem man die Mischung solange kocht, bis die Temperatur der Flüssigkeit auf 175° gestiegen ist. Hierauf läßt man unter 100° abkühlen und verdünnt die Mischung mit 100 ml Wasser.

Reduktion und Destillation.

Die weitere Verarbeitung der Flüssigkeit geschieht in einem Destillierapparat, der eine Tropfvorrichtung und eine Einrichtung zum Einleiten eines Transportgases aufweisen muß. Als sehr geeignet hat sich der Apparat nach *Zacherl* und *Stöckl* erwiesen.

Die Absorptionsvorlage des Destillierapparates wird mit 5 ml Brom-Eisessig-Acetat-Lösung und 5 ml Wasser beschickt. Man schließt den Kolben mit der Oxydationsmischung an und leitet einen schwachen Gasstrom (Luft, Kohlensäure oder Stickstoff) durch. Der Kolben wird über kleiner Flamme zum Sieden erhitzt. Wenn die Destillation beginnt, läßt man phosphorige Säure zutropfen. Der Braunstein beginnt sich aufzulösen, wobei die Flüssigkeit zunehmend durchscheinender und schließlich ganz hell und farblos wird. Jetzt stellt man die Zufuhr des Reduktionsmittels ab und destilliert weiter, bis etwa 50 ml Flüssigkeit übergegangen sind.

Bestimmung des Jods.

Für die eigentliche Jodbestimmung stehen zwei Wege offen. Entweder läßt sich die bei *Zacherl* und *Stöckl*⁵ beschriebene Mikrotitration mit Hilfe der *Gorbach*-Bürette ausführen. Oder aber man kann nach einem im hiesigen Institut ausgearbeiteten Verfahren, das auf Angaben von *Endres* und *Kaufmann*⁷ zurückgeht, das Jod kolorimetrisch bestimmen. Hier sei nur dieser letzterwähnte Weg beschrieben. Nötig ist ein kleiner Destillierapparat mit leicht spindelförmigem Kolben, kurzem absteigendem Kühler und kleinem Peligot-Rohr als Vorlage. Die einzelnen Teile werden durch Glasschliffe miteinander verbunden.

Die das Jod enthaltende Brom-Eisessig-Lösung wird quantitativ in den kleinen Destillierkolben überspült. Man erhitzt über freier Flamme zum Sieden und kocht während 3 Minuten zum Vertreiben des Broms. Nach dieser Zeit gibt man ohne abzukühlen 5 Tropfen Kaliumjodidlösung und 1 ml 6-n Schwefelsäure (genau abmessen!) zu und schließt den Kolben so rasch als möglich an den Destillierapparat an. Die Vorlage enthält 5 ml Wasser und taucht in ein Gefäß mit Eiswasser. Man destilliert 2 Minuten lang lebhaft, entfernt die Flamme und gibt 2 ml Lösung I in die Vorlage, die dabei in der Kühlflüssigkeit verbleibt. Es ist wesentlich, daß die Destillation ziemlich rasch durchgeführt wird, weil sonst eigenartigerweise zu geringe Jodwerte erhalten werden. Die Vorlage bleibt mit den Lösungen noch 6 Minuten in der Kühlflüssigkeit. Hierauf gibt man 3 ml Lösung II zu. Nach einigen Sekunden beginnt sich eine schön rote Färbung zu bilden, die allmählich stärker wird und nach 10 Minuten ihre maximale Intensität erlangt. Diese Färbung ist bei richtiger Ausführung der Reaktion der ursprünglich vorhandenen Jodmenge proportional. Sie bleibt während einiger Stunden konstant. Das Absorptionsmaximum liegt bei 528 m μ . Bei dieser Wellenlänge ergibt

1 μ g Jod noch eine Extinktion von 0,03, so daß es ohne weiteres möglich ist, noch geringere Mengen mit Sicherheit photometrisch zu bestimmen. Ein allfälliger geringer Jodgehalt der verwendeten Reagenzien wird dadurch unschädlich gemacht, daß man sich nach dem beschriebenen Verfahren (Aufschluß, Reduktion, Destillation, Farbreaktion) eine Vergleichslösung herstellt, die bei den photometrischen Messungen als Blindprobe dient.

Zusammenfassung.

Die Bestimmung kleiner Mengen Jod in Stoffen, die zugleich Fett und Eiweiß enthalten, bietet besondere Schwierigkeiten. Die bisher gebräuchlichen Verfahren, die meist für die Bestimmung des Jodgehaltes im Blut ausgearbeitet worden waren, führen nicht ohne weiteres zum Ziel. Durch eine Kombination verschiedener Prinzipien ließ sich eine Methode finden, die auch bei schwer aufschließbaren Substanzen zu guten Ergebnissen führt. Beim angegebenen neuen Verfahren werden die zu untersuchenden Stoffe einer alkalischen Vorbehandlung bei verhältnismäßig niedriger Temperatur unterzogen. Es folgt die eigentliche Veraschung mit saurer Permanganatlösung. Aus diesem Gemisch wird das Jod durch Reduktion mit phosphoriger Säure und Destillation freigesetzt. Das freie Jod wandelt eine äquivalente Menge von Hydroxylamin in Nitrit um und dieses wird schließlich nach der bekannten Reaktion mit Sulfanilsäure und α -Naphthylamin kolorimetrisch bestimmt. Das Verfahren ist allgemein anwendbar bei Stoffen, bei denen einfachere Methoden zur Isolierung des Jods versagen.

Summary.

The determination of small amounts of iodine in substances containing both fat and albumin involves considerable difficulties. The methods commonly used till now, most of which have been elaborated for the determination of the iodine content in blood, do not always answer the purpose. By the combination of different principles, a method could be developed which yields good results even for substances difficult to analyse. The substance to be examined is previously submitted to an alkaline treatment at a relatively low temperature. Then it is incinerated with acid permanganate solution. The iodine contained in the ashes is set free by reduction with phosphorous acid and distillation. By the liberated iodine an equivalent amount of hydroxylamine is transformed into nitrite, which is finally determined colorimetrically by the ordinary reaction with sulphanilic acid and α -naphthylamine. The above procedure is fit for general application to substances where simpler methods for the isolation of iodine fail to work.

Résumé.

Il est extrêmement difficile de déterminer de petites quantités d'iode dans des substances contenant en même temps de la graisse et de l'albumine. Les méthodes utilisées jusqu'à ce jour, mises au point en général pour déterminer la teneur en iode du sang, ne mènent pas sans autre au but. En combinant plusieurs principes, on a découvert un procédé donnant de bons résultats, même avec des substances qui s'analysent difficilement. En appliquant le nouveau procédé indiqué, les matières à analyser sont soumises à un prétraitement alcalin, à une température relativement basse. Vient ensuite l'incinération proprement dite avec une solution de permanganate acide. L'iode est libéré de ce mélange par réduction avec de l'acide phosphoreux et distillation. L'iode libre transforme une quantité équivalente d'hydroxylamine en nitrite et finalement ce dernier est déterminé colorimétriquement selon la réaction connue avec l'acide sulfanilique et l' α -naphthylamine. La technique peut être appliquée généralement pour des substances où des méthodes plus simples pour isoler l'iode échouent.

Literatur.

- ¹ Th. v. Fellenberg, Mitt. Lebensmittelunters. u. Hyg. **14**, 229 (1923); **15**, 233 (1924); Biochem. Z. **139**, 444 (1923); **152**, 128, 145 (1924); **160**, 223 (1925).
- ² J. Schwaibold und B. Harder, Biochem. Z. **240**, 441 (1931).
- ³ G. Pfeiffer, Biochem. Z. **256**, 214 (1932).
- ⁴ Th. Leipert, Biochem. Z. **261**, 436 (1933).
- ⁵ M. K. Zachert und W. Stöckl, Mikrochem. **38**, 278 (1951).
- ⁶ D. S. Riggs und E. B. Man, J. Biol. Chem. **134**, 193 (1940).
- ⁷ G. Endres und L. Kaufmann, Z. physiol. Chem. **243**, 144 (1936).

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/35.

Zeilenanzahl: 606.

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien:

Mikroelektrophorese.

Von

H. Michl.

Mit 7 Abbildungen.

(Eingelangt am 30. März 1955.)

Bewegt sich in einer Lösung der gelöste Stoff unter dem Einfluß eines elektrischen Feldes, so wird dieser Vorgang bei niedrigmolekularen Stoffen als Ionophorese, bei hochmolekularen Stoffen als Elektrophorese bezeichnet¹. Die Geschwindigkeit, mit der sich ein geladenes Teilchen im elektrischen Feld bewegt, ist proportional der Stärke des Feldes und liegt in der Größenordnung von 10^{-4} cm/sek⁻¹ bei einem Spannungsfälle 1 V/cm. Die Wanderungsgeschwindigkeit eines Teilchens hängt vor allem von seiner Ladung und in geringerem Maße von seiner Größe und Gestalt ab. Diese Gesetzmäßigkeiten kennt man schon länger als 100 Jahre, sie wurden zuerst von *Wiedemann*² und etwas später von *Quincke*³ veröffentlicht. Wie man aus Hinweisen in den genannten Arbeiten entnehmen kann, war damals die Erscheinung der Elektrophorese schon längere Zeit bekannt, als erster dürfte sie *Reuss* 1808⁴ beobachtet haben.

Elektrophoretische Untersuchungen sind ursprünglich überhaupt nur zum Studium der elektrokinetischen Erscheinungen, zu denen die Elektrophorese ja gehört, durchgeführt worden⁵. Das ist lange Zeit so geblieben. Ich kann allerdings auf diese interessanten Untersuchungen nicht näher eingehen, da das Thema meines Vortrages die Methodik der analytischen Anwendungen der Elektrophorese behandeln soll. Diese sind erst seit den Arbeiten von *Tiselius*⁶ 1938 Allgemeingut geworden, wenn auch schon früher vereinzelt elektrophoretische Methoden zur Auftrennung von Substanzgemischen verwendet worden sind.

Zur Zeit werden für analytische Untersuchungen hauptsächlich zwei Anordnungen bevorzugt: die freie Elektrophorese mit wandernden Fronten und die Zonenelektrophorese (Abb. 1). Überführungsmethoden⁷ und die Beobachtung der elektrophoretischen Bewegung einzelner Teilchen unter dem Mikroskop⁸ werden zur Zeit für Trennungen kaum verwendet.

Die freie Elektrophorese erfolgt im Prinzip in einem U-Rohr, das mit Puffer gefüllt ist. Auf dem Boden dieses U-Rohres befindet sich die Lösung der zu untersuchenden Substanz. Legt man nun an dieses U-Rohr eine elektrische Spannung, so beginnt die Substanz je nach ihrer Beweglichkeit mehr oder weniger schnell zu wandern, und zwar wandert sie in einem Schenkel eine bestimmte Strecke hinauf, im andern annähernd dieselbe Strecke hinunter. Hat man ein Gemisch mehrerer Substanzen mit verschiedenen Beweglichkeiten, so tritt demnach in beiden Schenkeln eine partielle Entmischung ein.

Dieses einfache U-Rohr wird jetzt natürlich nicht mehr verwendet. Den Querschnitt durch eine moderne Apparatur⁹ zeigt Abb. 2. Die wesentlichsten Unterschiede gegenüber dem alten U-Rohr sind, daß die Elektrodenräume von dem eigentlichen Elektrophoreseraum getrennt sind, damit das Untersuchungsmaterial nicht durch Elektrolyseprodukte verunreinigt wird. Ferner ist es sehr wichtig, daß man eine scharfe Grenze zwischen Untersuchungsmaterial und überstehendem Puffer herstellen kann. Das geschieht bei der gezeigten Apparatur durch horizontales Verschieben zweier Glasblöcke, die die Bohrungen für die zu unter-

suchenden Lösungen tragen.

Mit diesem Verfahren kann man hauptsächlich hochmolekulare Substanzen untersuchen, und zwar aus folgenden Gründen: Um das Auftreten von Störungen zu vermeiden, muß der Beitrag der Untersuchungssubstanz zur Gesamtleitfähigkeit möglichst gering sein, er soll etwa 1% nicht übersteigen¹⁰. Das heißt also, daß der Puffer, der das U-Rohr ausfüllt, eine möglichst hohe Konzentration und die Substanz eine möglichst geringe haben soll. Nun kann man aber die Ionenstärke des Puffers nicht beliebig groß machen, da sonst der Puffer eine zu hohe Leitfähigkeit bekommen würde und man wegen der zu großen Wärmeentwicklung nur ein niedriges Spannungsgefälle anlegen könnte. In der Praxis arbeitet man mit Ionenstärken von 0,1 bis 0,2. Bei der Untersuchung von niedermolekularen Stoffen dürfte deren Konzentration daher nicht größer als 0,001-n sein. Derartige Fronten sind instabil, sie werden in der zu einer Auftrennung notwendigen Zeit durch Konvektion und Diffusion zerstört¹¹.

Wesentlich günstiger liegen die Verhältnisse bei hochmolekularen Stoffen. Wegen der geringen Beweglichkeit und verhältnismäßig niedrigen Ladung kann man hier 1- bis 5%ige Lösungen verwenden. Die Grenzflächen sind infolge der kleinen Diffusionskonstanten dieser Stoffe in den zur Auftrennung notwendigen Zeiträumen weitgehend beständig.

Wie macht man nun die Phasengrenzfläche Protein: Puffer sichtbar? Normalerweise sind Proteinlösungen nicht gefärbt, auch der Nachweis mit Hilfe der UV-Absorption gibt bei Proteingemischen nur sehr unbefriedigende Resultate¹². Seit den Arbeiten von *Tiselius*⁶ verwendet man zum Nachweis solcher Phasengrenzen praktisch ausschließlich die Unterschiede des Brechungsindex zwischen Puffer und Proteinlösung. Es werden hierbei hauptsächlich zwei Anordnungen bevorzugt: 1. Methoden, die auf dem *Tölplerschen* Schlierenverfahren beruhen und 2. Interferenzverfahren.

Die erste Anordnung findet hauptsächlich bei der Makroelektrophorese¹³ Anwendung. Sie liefert in der Modifikation von *Longworth*¹⁴ Schattenkurven, die den Verlauf des Differentialquotienten dn/dx wiedergeben. Jedem Hügel der Kurve entspricht eine Komponente, die Fläche jedes Hügels ist unter bestimmten Voraussetzungen der Konzentration proportional. Bei dem Verfahren von *Lamm*¹⁵ kann man eine analoge Kurve zeichnerisch punktweise konstruieren, beim Verfahren von *Svensson* erhält man direkt eine Kurve, hell auf dunklem Grunde oder umgekehrt, die analog ausgewertet werden kann¹⁶. Der Kurvenverlauf kann während der gesamten Versuchszeit beobachtet und photographisch festgehalten werden. Pro Versuch benötigt man ca. 10 bis 100 mg Substanz.

Der Übergang zu Substanzmengen von ca. 1 mg pro Versuch veranlaßte die Einführung von interferometrischen Meßmethoden¹⁷. Diese liefern im Gegensatz zu den bisher besprochenen Verfahren, die Bilder des Differentialquotienten gegen die Küvettenhöhe geben, zunächst direkt den Verlauf des Berechnungsquotienten gegen die Küvettenhöhe, also das Integral der oben genannten Kurve. Bei dieser Anordnung kann man also die Konzentration direkt ablesen, hat aber den Nachteil, daß man die Trennung selbst viel schlechter sieht. Auf diesem Gebiet sind bisher eine ganze Anzahl, meist äußerst geistreicher Methoden vorgeschlagen worden, die eine optische Differenzierung bzw. eine gleichzeitige Aufzeichnung der Differential- und der Integralkurve ermöglichen sollen¹⁸.

Einen verhältnismäßig einfachen Strahlengang hierfür gibt *Svensson*¹⁹ an. Abb. 3 zeigt ihn schematisch in Grund- und Aufriß. Hier sind zwei optische Systeme, von denen das eine die Differential- und das andere die Integralkurve ergibt, ineinander geschachtelt. Die Differentialkurve wird durch den von *Svensson* schon 1939 vorgeschlagenen Strahlengang erzeugt¹⁶: zu diesem gehört der hier links befindliche waagrechte Spalt (A), der von den beiden Linsen (B) und (E) auf dem schrägen Draht (F) abgebildet wird. Zwischen diesen beiden Linsen, die man als Schlierenobjektive bezeichnet, befindet sich nun die Küvette (C), in der die Auftrennung erfolgt. Im Gegensatz zu den bisher verwendeten rechteckigen oder runden Küvetten, besitzt diese die Form eines Rechteckes mit auf-

gesetztem Dreieck. Zur Erzeugung der Differentialkurve dient der rechteckige Teil.

Befindet sich nun an einer Stelle der Küvette ein Brechungsgradient, so wird das Licht durch diesen nach unten abgelenkt werden und schneidet den schrägen Draht an einer anderen Stelle als das nicht abgelenkte Licht. Zwischen dem schrägen Draht (*F*) und der photographischen Platte (*I*) befindet sich ein photographisches Objektiv (*G*) und eine Zylinderlinse (*H*). Beide sind so angeordnet, daß sie in der Horizontalen den schrägen Draht (*F*) auf der photographischen Platte (*I*) und in der Vertikalen die Küvette auf (*I*) abbilden. Durch das Zusammenwirken beider Abbildungsarten kommt nun die Gradientenkurve, die Abb. 4 zeigt, dunkel auf hellem Grund zustande. Dunkel auf hellem Grund deshalb, weil sie sozusagen den Schatten des Drahtes auf einer beleuchteten Wand darstellt.

Zur undifferenzierten Abbildung des Brechungsverlaufes dient der Teil der Zelle, der als optisches Prisma wirkt. Er wird von einem vertikalen Spalt (*A*) ausgeleuchtet. Durch die Prismenform wird das Lichtbündel seitlich abgelenkt. Der Grad der Ablenkung hängt wie bei jedem Prisma vom Prismenwinkel und vom Brechungskoeffizienten des Prismenmaterials ab. Der Prismenwinkel ist nun naturgemäß über den ganzen Bereich konstant, der Brechungskoeffizient ändert sich jedoch in senkrechter Richtung. Es wird also das Lichtbündel an den Stellen, wo ein stärkerer Brechungskoeffizient vorhanden ist, stärker abgelenkt werden, wobei die Stärke der Ablenkung dem Brechungskoeffizienten proportional sein wird. Da nun, wie bereits bei der Besprechung des Strahlenganges der Differentialkurve gezeigt wurde, der von der Lichtquelle ausgeleuchtete Spalt (*A*) in seiner waagrechten Dimension auf dem schrägen Draht (*F*) durch die Zylinderlinse (*H*) abgebildet wird, wird auch der senkrechte Spalt (*A*) in seiner waagrechten Dimension auf der photographischen Platte (*I*) abgebildet werden. Da nun die Lichtstrahlen beim Durchtritt durch den dreieckigen Teil der Zelle verschieden stark abgelenkt werden, erhält man auf der photographischen Platte das gewünschte Bild des Brechungsgradienten.

Ein Interferenzverfahren verwendet auch die verbreitetste Apparatur -- zur Zeit dürften mehrere hundert Apparate in Verwendung stehen -- für freie Mikroelektrophorese. Diese Apparatur wurde von *Antweiler* entwickelt⁹, sie benützt eine Interferometeranordnung nach *Jamin*²⁰. Ich will sie wegen ihrer weiten Verbreitung genauer besprechen. Bei dieser Apparatur wird die Küvette in der entsprechenden Höhe mit einem weißen Lichtstrahl von $0,05 \times 0,5$ mm Querschnitt abgetastet. Der tastende Lichtstrahl tritt mit einem zweiten kohärenten Lichtstrahl, der in einem Vergleichskanal läuft, in Interferenz. Wenn nun durch Konzentrationsunterschiede zwischen dem Meß- und Vergleichskanal Phasenverschiebungen der Lichtstrahlen hervorgerufen werden, kompensiert man sie durch eine meßbare Drehung der 2. Jaminplatte (Abb. 5). Auf diese Weise wird allerdings nur der Brechungsindex und nicht sein Differentialquotient gemessen. Die Differenzierung erfolgt punktwise durch eine sehr sinnreiche mechanische Vorrichtung. Die Empfindlichkeit ist bei diesem Verfahren sehr groß, da man statt der Helligkeitsempfindung des Auges bzw. der photographischen Platte die Farbempfindlichkeit des Auges heranzieht. Man kann noch Konzentrationsunterschiede einer Proteininlösung von 0,001 % erkennen^{9, 21}.

Das besprochene Verfahren gestattet von allen elektrophoretischen Methoden die schnellste Durchführung einer Analyse. Mit der Dialyse des Untersuchungsmaterials, die der elektrophoretischen Bestimmung vorhergehen muß, dauert eine quantitative Bestimmung insgesamt etwa 2 Stunden.

Es seien nun kurz einige Anwendungen der freien Elektrophorese und die Grenzen dieser Methode besprochen. Die Elektrophorese wird noch immer am meisten in der Medizin, und zwar zur Untersuchung von Serum verwendet. Man kann mit ihrer Hilfe sehr feine Unterschiede in der Zusammensetzung der makromolekularen Substanzen erkennen und wertvolle diagnostische Hinweise gewinnen. Auf nähere Einzelheiten soll hier nicht eingegangen werden, über dieses Gebiet existieren zwei sehr

ausführliche Bücher mit mehr als 1000 Literaturhinweisen^{21, 22}. Auch die makromolekularen Substanzen vieler anderer Körperflüssigkeiten z. B. des Augenwassers, der Erythrocytenproteine, des Harns, der Kniegelenksergüsse, Muskelproteine, des Pleuraexudates und des Samens wurden untersucht²¹⁻²⁴. Grundsätzlich eignet sich die freie Elektrophorese zur Untersuchung aller löslichen Proteine und man hat von dieser Tatsache auch weitgehend Gebrauch gemacht. Es wird wenig derartige Stoffe geben, die man noch nicht elektrophoretisch untersucht hat. Auf nichtmedizinischem Gebiet hat aber die freie Elektrophorese lange nicht die Verbreitung erfahren wie zur Untersuchung von Serumproteinen. Trotzdem können auch hier wegen der Fülle des Materials nur einige wenige Beispiele genannt werden²⁵. In der Nahrungsmittelchemie fand die freie Elektrophorese z. B. zur Untersuchung des Hühner-eiweißes²⁶, der Milchproteine²⁷ und der Getreideproteine²⁸ Verwendung. Schlangengifte wurden elektrophoretisch untersucht²⁹. In der Enzymologie führte man Messungen an verschiedenen Enzymen und Fermenten³⁰ durch und in der Bakteriologie benützte man sie zur Untersuchung von Bakterien und Viren³¹. Man arbeitete auch mit Nichteiweißstoffen, sofern sie in Wasser löslich oder suspendierbar sind, elektrische Ladungen tragen oder durch Adsorption bzw. chemische Bindung elektrisch geladener Teilchen solche bekommen. Als Beispiele könnte man hier die Untersuchung von Polysacchariden³², von Nukleinsäuren³³ und von Suspensionen anorganischer Stoffe³⁴ nennen. Die Anwendung der freien Elektrophorese mit wandernden Fronten scheint auch in Zukunft überall dort berechtigt und entwicklungsfähig zu sein, wo Substanzen untersucht werden sollen, die man nicht der Zonenelektrophorese unterwerfen kann, sei es, daß sie zu stark adsorbiert werden, sei es, daß die Teilchen zu groß sind. Allen anderen elektrophoretischen Verfahren ist die freie Elektrophorese außerdem dadurch überlegen, daß mit Hilfe der optischen Methoden die qualitative und quantitative Auftrennung während der gesamten Versuchsdauer verfolgt werden kann. Auch die Geschwindigkeit, mit der die Versuchsergebnisse vorliegen, und die Reproduzierbarkeit (der mittlere Fehler einer Albuminbestimmung im Humanserum liegt zwischen 0,3 und 0,5% des Gesamtproteingehaltes^{21, 22}) werden von anderen Methoden kaum erreicht.

Bei so vielen Vorteilen hat die freie Elektrophorese natürlich auch einige Nachteile, sonst hätte wahrscheinlich auch niemand andere Methoden ausgearbeitet. Ein sehr wesentlicher Nachteil ist z. B., daß die erforderliche Einrichtung sehr kompliziert und kostspielig ist. Es liegen zwar einige Versuche vor, die Apparatur zu vereinfachen³⁵, doch geht das auf Kosten der Genauigkeit und der Empfindlichkeit. Die Grenzen ihrer Anwendung liegen ferner in der Auswahl der Stoffgebiete: man kann nur hochmolekulare Stoffe untersuchen. Die Wanderungstrecken sind nur sehr klein, damit die Grenzflächen nicht durch elektroosmotische Vorgänge zerstört werden. Quantitative Auswertungen sind z. B. nur für Wanderungstrecken bis zu 40 mm möglich. Für qualitative Untersuchungen und bei Maßnahmen zur Unterdrückung der Elektroosmose⁹ kann man diese Wanderungstrecke verdoppeln bis verdreifachen, doch sind dann meist schon apparative Grenzen gesetzt. Eine Reindarstellung der einzelnen Komponenten ist praktisch nicht möglich, da ja, wie beschrieben, nur eine partielle Entmischung eintritt. Bestenfalls kann man, wie leicht einzusehen ist, jeweils einen Teil der schnellsten und der langsamsten Komponente rein gewinnen. Ein weiterer sehr unangenehmer Nachteil ist, wie erwähnt, der relativ hohe Substanzverbrauch.

Einige dieser Nachteile werden bei der zweiten, derzeit verbreitetsten Form der Elektrophorese, der Zonenelektrophorese vermieden. Bei dieser erfolgt die elektrophoretische Wanderung in einem Streifen eines porösen Materials, meist Filtrierpapier, das mit Puffer getränkt ist. Das Untersuchungsmaterial wird in Form eines Striches normal zum Spannungsgefälle aufgetragen. Legt man nun an den Streifen eine elektrische Spannung an, so beginnen die Stoffe zu wandern. Es findet hierbei, im Gegensatz zur freien Elektrophorese, eine vollständige Trennung der zu untersuchenden Substanzen statt. (Abb. 1.)

Zonenelektrophoretische Methoden hat man schon verhältnismäßig

früh zur Auftrennung von Substanzgemischen verwendet. So versuchten *Field* und *Teague*³⁶ 1907 Diphtherietoxin und -antitoxin in einem Agargel zu trennen. Auch die Auftrennung von anorganischen Ionen wurde auf ähnliche Weise versucht. So arbeiteten *Kendall* und Mitarbeiter^{37, 38} mit Gemischen von seltenen Erden, Zirkon und Hafnium sowie Radium und Mesothorium, wobei sie Trennwege bis zu 3 m Länge benutzten. Später gelang anderen Autoren³⁹ sogar die Entmischung von Kalium-Isotopen. In der Mitte der 20er Jahre wurde von *Fürth* und *Gicklhorn*⁴⁰ eine Methode zur Bestimmung der elektrischen Ladungen von gelösten Stoffen beschrieben, die man als Vorläufer der Hochvoltelektrophorese bezeichnen kann. Auch die Verwendung von Filtrierpapier zur Stabilisierung des Puffers wurde von diesen Autoren bereits vorgeschlagen. Als eigentliche Entdecker der Papierelektrophorese aber kann man wohl *Paul König* in Brasilien, der 1938 die Methode zur Auftrennung von Schlangengift verwendete⁴¹, und *Th. Wieland*, dessen Arbeit 1948 erschienen ist⁴², bezeichnen. In der Folgezeit hat dann die Papierelektrophorese eine ähnliche stürmische Entwicklung durchgemacht wie die Papierchromatographie. 1950 waren etwa 10 Arbeiten auf diesem Gebiet bekannt, Mitte 1953 waren es bereits über 500 und Anfang 1954 über 1000. Diese rasche Verbreitung ist wenig verwunderlich, die Methode ist leicht durchzuführen, sie erfordert nur einen geringen apparativen Aufwand und gibt gute Auftrennungen.

Man kann nun die Papierelektrophorese grundsätzlich auf zwei verschiedene Arten durchführen: mit niedrigen und mit hohen Spannungsgefällen. Die klassische Form ist die für niedrige Spannungsgefälle. Im Prinzip handelt es sich um eine feuchte Kammer, in der sich ein waagrecht Papierstreifen befindet (Abb. 6). Dessen beide Enden tauchen in Puffergefäße, an die die Spannung gelegt wird. Das Untersuchungsmaterial wird in Form eines Striches normal zur Längsrichtung aufgetragen und dann unter dem Einfluß des elektrischen Stromes getrennt. Bei dieser Anordnung soll das Spannungsgefälle 3 bis 5 V/cm nicht übersteigen. Derartige Apparaturen sind weit verbreitet, in der Ausführung von *Grassmann* und *Hannig*⁴³ sind ca. 2000 Einrichtungen in Verwendung. Zur Untersuchung von hochmolekularen Stoffen stellen sie noch immer die einfachste Möglichkeit dar, man bekommt sehr gute Auftrennungen. Auf Einzelheiten soll an dieser Stelle nicht eingegangen werden, es sei auf die einschlägige Literatur⁴⁴ verwiesen. Die Methode wurde auch zur Untersuchung von verschiedenen niedrigmolekularen Stoffklassen verwendet, z. B. Alkaloiden⁴⁵, Aminosäuren⁴⁶, biogenen Aminen⁴⁷, Flavonen⁴⁸, Kohlenhydraten⁴⁹, Phosphatiden⁵⁰, Purinen⁵¹, Sulfonamiden⁵² und den Vitaminen der B-Gruppe⁵³. Auch Gemische anorganischer Ionen ließen sich auftrennen, so etwa die seltenen Erden⁵⁴, die Sulfobasen⁵⁵ und Polyphosphate⁵⁶.

Die Ableitung der Jouleschen Wärme erfolgt bei den frei hängenden Streifen in Form von Verdunstungswärme^{57, 58}. Das führt, wie leicht einzusehen ist, allmählich zu einer Austrocknung des Streifens, frischer Puffer strömt von den Elektrodengefäßen zur Mitte des Filtrierpapierstreifens, es bildet sich eine stetige Pufferströmung aus. Diese Pufferströmung ist naturgemäß in den Randgebieten des Streifens am stärksten, gegen die Mitte zu sinkt sie linear gegen 0 ab. Eine quantitative Messung dieser Erscheinung zeigt die Abb. 7. Die Abszisse gibt die cm Filtrierpapierstreifen an, die Ordinate das Spannungsgefälle in V/cm bzw. die Strömungsgeschwindigkeit des Puffers in mm/10 min. Wenn etwa die Substanz auf dem mit dem Pfeil bezeichneten Punkt aufgetragen wird, so wird sie zunächst durch elektrische und mechanische Kräfte in der gleichen Richtung bewegt. Geht man zur Mitte zu, so werden die mechanischen Kräfte immer schwächer, sie sinken schließlich auf 0 ab. Die Bewegung der Teilchen erfolgt nur mehr durch die elektrischen Kräfte. Beim weiteren Wandern wirken sich mechanische und elektrische Kräfte entgegen, bis beide gleich groß sind, das heißt, bis sich schließlich ein Gleichgewichtszustand einstellt. Eine Verlängerung der Versuchsdauer über diesen Zeitpunkt hinaus bringt keine Verbesserung der Auftrennung mehr. Es herrschen hier also ähnliche Verhältnisse wie bei der Elektrophorese⁵⁹.

Bei der Anordnung mit frei hängenden Streifen hat man also, genau wie bei der freien Elektrophorese, eine maximale Wanderungstrecke, die weitgehend durch die Pufferkonzentration und das Spannungsgefälle bestimmt ist. Sie liegt bei den üblichen Versuchsanordnungen bei 10 bis 20 cm. Je stärker man das Spannungsgefälle erhöht, desto kleiner wird die optimale Wanderungstrecke. Das ist dadurch bedingt, daß bei der Erhöhung des Spannungsgefälles die Wanderungsgeschwindigkeit linear, die entwickelte Joulesche Wärme jedoch quadratisch wächst und dementsprechend mehr Lösungsmittel verdunstet. Um die Untersuchungsdauer, die für Serumanalysen bei einem Spannungsgefälle von 3 bis 5 V/cm etwa 12 Stunden beträgt, herabzusetzen, war man bestrebt, das Spannungsgefälle zu erhöhen. Einige Autoren versuchten das ohne wesentliche Änderungen der Apparate⁶⁰. Die Auftrennungen waren aber meist weniger gut, als bei niedrigen Spannungsgefällen. Eine Lösung dieses Problems gelingt durch Anwendung geeigneter Kühlvorrichtungen oder durch die Berücksichtigung der oben beschriebenen Pufferströmung, die z. B. bei der Verwendung von trapezförmigen Streifen erreicht wird⁵⁸. Diese Methode bringt folgende Vorteile: es wirken im ganzen Versuchsbereich elektrische und mechanische Kräfte in der gleichen Richtung; dadurch wird wirklich möglichst viel von der zugeführten elektrischen Energie zur Auftrennung der Teilchen verwendet. Ferner steigt das Spannungsgefälle gegen das schmalere Ende des Streifens zu an, die schnellsten Teilchen kommen in ein stärkeres elektrisches Feld und wandern dadurch noch schneller. Man bekommt also bei einem gleichen mittleren Spannungsgefälle eine bessere Auftrennung als bei rechteckigen Streifen. Weitere Vorteile sind, daß man an den breiteren Stellen des Streifens verhältnismäßig viel Substanz auftragen kann. Ist diese dann an die schmaleren Stellen gewandert, so ist die Auftrennung schon so weit fortgeschritten, daß keine Störungen durch zu hohe Konzentrationen mehr zu befürchten sind. Auch bei dieser Methode gibt es eine optimale Wanderungstrecke.

Keine Beschränkung des Wanderungsweges hat man bei den Methoden, bei denen die Joulesche Wärme durch Wärmeleitung abgeführt wird. Der Filtrierpapierstreifen befindet sich bei diesem Verfahren zwischen gekühlten Platten oder unter einer mit dem Puffer nicht mischbaren Flüssigkeit⁶¹. Derartige Versuchseinrichtungen eignen sich weniger zur Auftrennung von Proteingemischen. Sie sind jedoch, da man bei entsprechend wirksamer Kühlung Spannungsgefälle bis etwa 200 V/cm anlegen kann, eine ausgezeichnete Methode zur Untersuchung von niedrigmolekularen Substanzen⁶¹⁻⁷². Bei derartigen Trennungen, sei es Papierchromatographie oder Papierelektrophorese, wirkt die Vergrößerung der Substanzflecken durch Diffusion einer Auftrennung entgegen. Befinden sich etwa auf einem Fleck von 0,5 cm Durchmesser zwei Stoffe und vergrößert sich der Fleck während der Versuchsdauer von 0,5 cm auf 1 cm, so muß man beide Substanzen mindestens 1 cm auseinanderziehen, um eine Trennung erkennen zu können. Gelingt es aber, etwa durch Verwendung starker Spannungsgefälle, die Versuchsdauer so kurz zu halten, daß praktisch keine Vergrößerung der Flecken stattfindet, so genügt die halbe Wanderungstrecke. Man hat dabei einen doppelten Gewinn, einmal durch die schnelle Wanderung zufolge des starken Spannungsgefälles und andererseits durch die geringere notwendige Wanderungstrecke. Ein weiterer entscheidender Vorteil ist ferner, daß die einzige Beschränkung der Wanderungstrecke durch die Größe der Apparatur gegeben ist. Derzeit verwendet man Wanderungstrecken bis zu etwa 1 m⁶⁴. Das Auftrennungsvermögen dieser Methode ist also sehr beträchtlich, es übertrifft das der Papierchromatographie bei bestimmten Substanzklassen, etwa Peptiden, wesentlich. Als Beispiele seien die Arbeiten von Kückhufen und Westphal⁶⁴ über Aminosäuren und Peptide erwähnt, die Arbeiten von Gross⁶⁵, der Kohlenhydratgemische untersuchte, und die Versuche von Turba⁶⁶, der sich mit Nukleinsäureabbauprodukten beschäftigte. Ferner sind die Untersuchungen von Heilmeyer und Mitarbeitern bekannt geworden⁶⁷, die sich mit den Reststickstoff verantwortlichen Substanzen befassen. Unsere Versuche behandelten die Trennung von Zuckern, mehrwertigen Alkoholen, Phenolen⁶³, nicht-

α -Aminosäuren⁶⁸, Hormonen⁷⁰ und Purinen, vor allem methylierten Xanthenen⁷¹. Es ist auch gelungen, durch Verwendung von weitgehend wasserfreien Lösungsmitteln Substanzen der Papierelektrophorese zu unterwerfen, die sonst nur in organischen Lösungsmitteln löslich sind, etwa aromatische Amine, Farbstoffe u. ä.⁷² Für präparative Trennungen hat sich vor allem die Elektrophorese in Stärkesäulen⁷³ oder Platten^{58, 74} bewährt.

Die qualitative und quantitative Auswertung von Elektrophorese-diagrammen auf Filtrierpapier kann normalerweise erst nach Beendigung des Versuches durch Trocknen und Sichtbarmachen der Substanz mit Hilfe von Farbreaktionen erfolgen. Verfügt man über Farbreaktionen, bei denen der Farbstoffgehalt der Konzentration der zu untersuchenden Substanz proportional ist, wird auch eine quantitative Auswertung möglich. Hiezu ist eine ganze Anzahl von Verfahren entwickelt worden^{21, 22, 41}, auf die ich kurz eingehen möchte. Man kann grundsätzlich zwischen verteilungsunabhängigen — bei diesen findet eine richtige Integration auch bei Konzentrationsunterschieden normal zur Wanderungsrichtung statt — und verteilungsabhängigen Verfahren unterscheiden. Die verteilungsunabhängigen Verfahren gestatten auch die exakte Auswertung von verzerrten Diagrammen, also von solchen, bei denen die Streifen nicht streng parallel verlaufen. Zu diesen gehört das Verfahren von *Turba* und *Enekel*⁷⁵ sowie von *Cremer* und *Tiselius*⁶¹. Man zerschneidet hierbei das Filtrierpapier in eine Anzahl kleine Streifen, eluiert den Farbstoff und bestimmt ihn kolorimetrisch. Auch die Verfahren, die mit radioaktiven Stoffen arbeiten⁷⁶, sind verteilungsunabhängig.

Bei den verteilungsabhängigen Verfahren werden an die Auftrennung wesentlich höhere Anforderungen gestellt. Die Substanzstreifen dürfen keinen Konzentrationsgradienten normal zur Streifenrichtung aufweisen. Am häufigsten bestimmt man die Konzentrationen mittels Spaltkolorimetern⁴². Bei diesen bewegt man den mit Hilfe von Bromnaphthalin oder ähnlichen Lösungsmitteln durchsichtig gemachten Streifen an einem beleuchteten Spalt, der normal zur Längsrichtung des Streifens verläuft, vorbei und bestimmt mit Hilfe einer Photozelle die Extinktion. Derartige Apparaturen können mit entsprechendem Aufwand auch zu vollautomatischen Einrichtungen ausgebaut werden. Mit wesentlich weniger Aufwand kommt man mit Hilfe einer photographischen Einrichtung zu selbstregistrierten Kurven, etwa durch die Zylinderlinsen-Graukeil-Methode⁷⁷. Bei dieser befindet sich auf der Bühne eines photographischen Vergrößerungsapparates der durchsichtig gemachte Streifen bzw. sein Negativ. Mit Hilfe einer Zylinderlinse, deren Brechungsgefälle in der Richtung des Filtrierpapierstreifens liegt, wird dieser auf einem photographischen Papier unter Zwischenschaltung eines Graukeiles abgebildet. Man erhält Schattenkurven, die durch Umwandlung der verschieden starken Lichtstreifen in größere oder kleinere Hügel entstanden sind. Die jeweilige Höhe dieser Hügel ist ein Maß für die Extinktionsdifferenz zwischen den angefärbten und den nicht angefärbten Stellen des Papierstreifens.

Die Zylinderlinse und den Graukeil kann man auch durch geeignete mechanische Maßnahmen ersetzen. Den gleichen Effekt, den die Zylinderlinse bewirkt, erreicht man dadurch, daß man das photographische Papier während der Belichtung normal zur Längsrichtung des Filtrierpapierstreifens bewegt. Der Graukeil wird durch Beschleunigung oder Verzögerung dieser Bewegung ersetzt. Bei der Verwendung eines geeigneten Schlittens kann man einen photographischen Vergrößerungsapparat mit einer normalen Optik verwenden, wodurch man an Lichtstärke und Schärfe des Bildes wesentlich gewinnt.

Die hier besprochenen verteilungsabhängigen Verfahren werden weitgehend verteilungsunabhängig, wenn man zur quantitativen Auswertung nicht die gesamte Filtrierpapierbreite verwendet, sondern nur ein wenige mm breites Stück.

Zu den verteilungsabhängigen Verfahren muß man auch die Retentionsanalyse von *Th. Wieland*⁷⁸ rechnen.

Zusammenfassend läßt sich über die Papier- bzw. Zonenelektrophorese sagen, daß sie folgende Vorteile bietet: einfache Apparaturen, vollkom-

mene Trennung der Substanzen, keine Beschränkung der Wanderungsstrecke bei geeigneter Kühlung, geringer Materialverbrauch und die Möglichkeit, auch niedermolekulare Stoffe untersuchen zu können. Nachteile sind, daß eine quantitative Auswertung erst nach der Beendigung des Versuches möglich ist, daß der mittlere Fehler einer Bestimmung etwa doppelt bis fünfmal so groß ist wie bei der freien Elektrophorese (er beträgt z. B. bei einer Albuminbestimmung im Serum 1,0 bis 2,5% vom Gesamteiweiß^{21, 22, 44, 79}) und daß schließlich das Stabilisierungsmittel, also meist das Filtrierpapier, mit der untersuchten Substanz in Wechselwirkung treten kann.

Wie in diesem Vortrag ausgeführt wurde, gestatten die elektrophoretischen Methoden die qualitative und quantitative Analyse von Stoffen, deren Teilchengröße vom niedermolekularen anorganischen Ion bis zu mikroskopisch sichtbaren Partikeln reichen kann. Die einzige Voraussetzung dafür ist, daß die Teilchen eine elektrische Ladung besitzen oder durch das Milieu bekommen. Die für eine Untersuchung benötigten Substanzmengen gehen hinunter bis zu 0,01 μg ⁷⁶. Andererseits kann man noch Gramm-Mengen präparativ trennen⁷³.

Der Autor dankt Herrn Prof. Dr. H. J. Antweiler, Bonn, für die Unterlagen zu den Abb. 2 und 5 und Herrn Dr. H. Svensson, Stockholm, für die Abb. 3 und 4.

Zusammenfassung.

Die vorliegende Arbeit beabsichtigt, eine Übersicht über die Methodik und die Anwendung der freien und der Zonenelektrophorese zu geben. Bei der freien Elektrophorese wird als Nachweismethode für die wandernden Fronten ein Verfahren von Svensson geschildert, das gleichzeitig eine Integral- und eine Differentialkurve des Brechungsquotienten in Abhängigkeit von der Küvettenhöhe liefert. Als Beispiel für die freie Mikroelektrophorese wird die Apparatur nach Antweiler genauer besprochen. Daran schließt sich ein Überblick über die Anwendungsmethoden der freien Elektrophorese und eine Diskussion der Vor- und Nachteile dieser Methode. Bei der Zonenelektrophorese wird hauptsächlich auf die Papierelektrophorese eingegangen, wobei die Trennmöglichkeiten bei niedrigen und hohen Spannungsgefällen diskutiert werden. Als Beispiel werden hauptsächlich Trennungen von niedermolekularen Ionen angeführt. Schließlich werden Geräte zur quantitativen Auswertung von Elektrophogrammen auf Filtrierpapier gezeigt.

Summary.

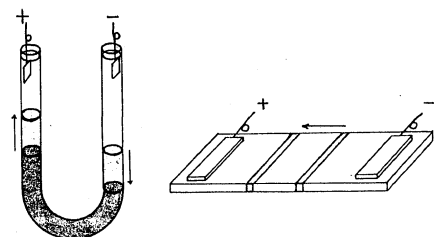
The objective of the present study is to survey the methodology and the application of free and zone electrophoresis. For free electrophoresis, a description is given of a detection method for the migrating front worked out by Svensson, which yields simultaneously an integral and differential curve of the refractive quotients in relation to the height of the cell. The apparatus of Antweiler is discussed in some detail as an example of micro electrophoresis. To this is added a survey of the application methods of free electrophoresis and a discussion of the advantages and disadvantages of this method. With respect to zone electrophoresis stress is laid principally on paper electrophoresis and the possibilities of separation at low and high potential falls are discussed. Separations of low molecular ions are cited primarily as examples. In conclusion, devices for the quantitative employment of electrophograms on filter paper are shown.

Literatur.

- ¹ A. J. P. Martin und R. L. M. Synge, *Advances of Protein Chemistry* 2, 31 (1945).
- ² G. Wiedemann, *Poggendorfs Ann.* 87, 321 (1852).
- ³ G. Quinke, *Poggendorfs Ann.* 113, 513 (1861).
- ⁴ F. F. Reuss, *Mém. soc. natural Moscou* 2, 327 (1808), cit. nach 2. und 3.
- ⁵ Vgl. J. A. V. Butler, *Electrical Phenomena at Interfaces*. London: 1951.
- ⁶ A. Tiselius, *Trans. Faraday Soc.* 33, 524 (1937); *Kolloid-Z.* 85, 129 (1938).
- ⁷ L. Ebert, *Wien-Harms Handbuch der Exp.-Physik* 12/1, 293 (1932).
- ⁸ A. J. Rutgers, L. Facq und J. L. van der Minne, *Nature* 166, 100 (1950).
- ⁹ H. J. Antweiler, *Kolloid-Z.* 115, 130 (1949); *Mikrochem.* 37, 561 (1951); *H. J. Antweiler in Methoden der organischen Chemie (Houben-Weyl)*, 4. Aufl., 3. Bd./2, in Druck.
- ¹⁰ H. Theorell in E. Abderhalden, *Handbuch der biologischen Arbeits-*

- methoden, Abt. V, 1097 (1936).
- ¹¹ H. Svensson, Ark. Kemi (Mineral. Geol.) (A) **22**, Nr. 10 (1946).
 - ¹² A. Tiselius in E. Abderhalden, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. III/B, 629 (1929).
 - ¹³ Ausnahme: Halbmikroapp. nach D. H. Moore und J. U. White, Rev. Sci. Instruments **19**, 700 (1948).
 - ¹⁴ L. G. Longworth, J. Amer. Chem. Soc. **61**, 529 (1939); Ind. Eng. Chem., Analyst. Ed. **18**, 219 (1946).
 - ¹⁵ O. Lamm, Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsaliensis (IV) **10**, Nr. 6 (1937).
 - ¹⁶ H. Svensson, Kolloid-Z. **87**, 181 (1939); **90**, 141 (1940).
 - ¹⁷ H. Labhard und H. Staub, Helv. Chim. Acta **30**, 1954 (1947). W. Lotmar, Helv. Chim. Acta **32**, 1847 (1949). H. Svensson, Acta Chem. Scand. **3**, 1170 (1949). L. G. Longworth, Analyt. Chemistry **23**, 347 (1951). E. Wiedemann, Helv. Chim. Acta **35**, 82 (1952).
 - ¹⁸ H. Svensson, Acta Chem. Scand. **4**, 399, 1329 (1950); **5**, 1301 (1951); **7**, 159 (1953).
 - ¹⁹ H. Svensson und R. Forsberg, J. Opt. Soc. Amer. **44**, 414 (1954).
 - ²⁰ M. J. Jamin, Ann. chim. phys. **52** [3], 166 (1858).
 - ²¹ H. J. Antweiler, Die quantitative Elektrophorese in der Medizin. Berlin: 1952.
 - ²² F. Wuhrmann und Ch. Wunderly, Die Bluteiweißkörper des Menschen. Basel: 1952.
 - ²³ G. Hamoir, Discuss. Faraday Soc. **13**, 116 (1953).
 - ²⁴ T. Erdos, Acta Physiol. Acad. Sci. Hung. **3**, 525 (1953), cit. Chem. Abstr. **47**, 6099 (1953).
 - ²⁵ Vgl. E. Wiedemann, Chimia **2**, 25 (1948).
 - ²⁶ R. H. Forsythe und J. P. Foster, J. Biol. Chem. **184**, 377 (1950). R. C. Warner in H. Neurath und K. Bailey, The Proteins **2/1**, 435, New York: 1954.
 - ²⁷ Th. L. McMeekin, Advances of Protein Chemistry **V**, 201 (1949) und in H. Neurath und K. Bailey, The Proteins. **2/1**, 389, New York: 1954.
 - ²⁸ J. F. Foster, J. T. Yang und N. H. Yui, Cereal Chem. **27**, 477 (1950). S. Brohult und E. Sandegren in H. Neurath und K. Bailey, The Proteins **2/1**, 487 (1954).
 - ²⁹ A. Polson, F. J. Joubert und D. A. Haig, Biochemie. J. **40**, 265 (1946). J. M. Goncalves und A. Polson, Arch. Biochemistry **13**, 253 (1947). J. M. Goncalves und L. G. Vieira, An. Acad. Brasil. Cienc. **22**, 141 (1950). F. G. Fischer und W. P. Neumann, Z. physiol. Chem. **297**, 92 (1954).
 - ³⁰ Vgl. J. B. Sumner und G. F. Somers, Chemistry and Methods of Enzymes. New York: 1953. S. 58. O. Hoffmann-Ostenhof, Enzymologie. Wien: Springer-Verlag. 1954. S. 27.
 - ³¹ P. J. Barry und A. M. James, J. Chem. Soc. London **1952**, 3340. C. C. Brinton, Jr., A. Buzzell und M. A. Lauffer, Biochim. Biophys. Acta **15**, 533 (1954). F. W. Putnam, Science **111**, 481 (1950). G. Schramm, Biochemie der Viren. Berlin: 1954.
 - ³² R. A. Alberty und M. Heidelberger, J. Amer. Chem. Soc. **70**, 211 (1948). E. Norberg und D. French, J. Amer. Chem. Soc. **72**, 1202 (1950). L. Delcombe, Bull. soc. chim. Belgique **59**, 508 (1950).
 - ³³ N. Ui und I. Watanabe, Bull. Chem. Soc. Japan **24**, 4, 210 (1951).
 - ³⁴ K. N. Davies und A. K. Holliday, Trans. Faraday Soc. **48**, 1061 (1952).
 - ³⁵ A. Polson, F. J. Joubert und D. A. Haig, Biochemie. J. **40**, 265 (1946). M. Macheboeuf C. r. soc. biol. Paris **135**, 1241 (1941). M. Dubuisson, A. Distèche und A. Debot, Biochim. Biophys. Acta **6**, 97 (1950). H. Michl, Mh. Chem. **82**, 23 (1951).
 - ³⁶ G. Field und S. Teague, J. Exper. Med. **9**, 86, 225 (1907).
 - ³⁷ J. Kendall, E. Jette und W. West, J. Amer. Chem. Soc. **48**, 2619, 3114 (1926).
 - ³⁸ J. Kendall, Science **67**, 163 (1928).
 - ³⁹ A. K. Brewer und S. L. Madorsky, Science **104**, 156 (1946).
 - ⁴⁰ Ref. in R. Keller und J. Gickhorn in E. Abderhalden, Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden, Abt. V/2, 1206 (1928).
 - ⁴¹ P. König, Actas III Congr. Sud. Americ. Chimica **2**, 334 (1937). D. von Klobusitzky und P. König, Arch. exper. Pathol. Pharmacol. **192**, 271 (1939).
 - ⁴² Th. Wieland, Angew. Chem. A **60**, 313 (1948). Th. Wieland und F. Fischer, Naturwiss. **35**, 29 (1948).
 - ⁴³ W. Grassmann und K. Hannig, Naturwiss. **37**, 496 (1950).
 - ⁴⁴ F. Turba, Chromatograph. Methoden in der Protein-Chemie. Berlin: 1954. Ch. Wunderly, Die Papierelektrophorese. Aarau: 1954. A. Tiselius und P. Flodin, Advances of Protein Chemistry **VIII**, 461 (1953). H. J. McDonald, R. J. Lappe, E. P. Marbach, R. H. Spitzer und M. C. Urbin, The clinical Chemist **5**, 17 (1953).
 - ⁴⁵ W. Deckers und J. Schreiber, Naturwiss. **40**, 553 (1953).
 - ⁴⁶ E. L. Durrum, J. Coll. Sc. **6**, 274 (1951).
 - ⁴⁷ R. Weber, Helv. Chim. Acta **34**, 2031 (1951).
 - ⁴⁸ Y. Hashimoto, I. Mori und M. Kimura, Nature **170**, 975 (1952).
 - ⁴⁹ L. Jaenicke und I. Vollbrechtshausen, Naturwiss. **39**, 86 (1952).
 - ⁵⁰ W. Kanngießer, Biochem. Z. **325**, 12 (1953).
 - ⁵¹ W. C. Werkheiser und R. J. Winzler, J. Biol. Chem. **204**, 971 (1953).
 - ⁵² H. Kutzim, Naturwiss. **39**, 135 (1952).

- ⁵³ N. Siliprandi, D. Siliprandi und H. Lis, *Biochim. Biophys. Acta* **14**, 216 (1954).
- ⁵⁴ T. R. Sato, H. Diamond, W. P. Norris und H. H. Strain, *J. Amer. Chem. Soc.* **74**, 6154 (1952). M. Lederer, *C. r. acad. sci., Paris* **236**, 200 (1953).
- ⁵⁵ M. Lederer, *Analyt. Chim. Acta* **6**, 355 (1952).
- ⁵⁶ B. Sansoni und R. Klement, *Angew. Chem.* **65**, 422 (1953).
- ⁵⁷ J. de Wael, *Chem. Weekbl.* **49**, 229 (1953). Z. Pucar, *Arkiv za Kemiju* **25**, 205 (1953); **26**, 29, 41 (1954).
- ⁵⁸ H. Michl, *Mh. Chem.* **85**, 1251 (1954).
- ⁵⁹ M. Macheboeuf, P. Rebeyrotte, J. Dubert und M. Brunerie, *Bull. soc. chim. biol.* **35**, 334 (1953).
- ⁶⁰ C. v. Holt, K. D. Voigt und K. Gaede, *Biochem. Z.* **323**, 345 (1952). W. Mach und R. Geffert, *Arzneimittelforsch.* **3**, 534 (1953). A. Dettker und H. Anduren, *Scand. J. Clin. Lab. Investigation* **6**, 74 (1954).
- ⁶¹ D. Cremer und A. Tiselius, *Biochem. Z.* **320**, 273 (1950).
- ⁶² H. Michl, *Mh. Chem.* **82**, 489 (1951).
- ⁶³ H. Michl, *Mh. Chem.* **83**, 737 (1952).
- ⁶⁴ B. Kickhöfen und O. Westphal, *Z. Naturforsch.* **7b**, 655, 659 (1952).
- ⁶⁵ D. Gross, *Nature* **172**, 908 (1953); **173**, 487 (1954).
- ⁶⁶ F. Turba, H. Pelzer und H. Schuster, *Z. physiol. Chem.* **296**, 97 (1954).
- ⁶⁷ L. Heilmeyer, R. Clotten, I. Sano, A. Sturm, Jr. und A. Lipp, *Klin. Wschr.* **32**, 831 (1954). Gemische organischer Säuren untersuchten H. Berballk und O. Schier, *Mh. Chem.* **86**, 146 (1955).
- ⁶⁸ H. Michl und H. Kuhn, *Fachl. Mitt. d. Österr. Tabakregie* **1954**, 10.
- ⁶⁹ L. Bilek, J. Derkosch, H. Michl und F. Wessely, *Mh. Chem.* **84**, 717 (1953).
- ⁷⁰ H. Tuppy und H. Michl, *Mh. Chem.* **84**, 1011 (1953).
- ⁷¹ H. Michl und F. Haberler, *Mh. Chem.* **85**, 779 (1954).
- ⁷² M. H. Paul und E. L. Durum, *J. Amer. Chem. Soc.* **74**, 4721 (1952).
- ⁷³ P. Flodin und J. Porath, *Biochim. Biophys. Acta* **13**, 175 (1954).
- ⁷⁴ H. Michl, *Mh. Chem.* **85**, 1240 (1954).
- ⁷⁵ F. Turba und H. J. Euenkel, *Naturwiss.* **37**, 93 (1950).
- ⁷⁶ H. G. Nöller, *Klin. Wschr.* **32**, 988 (1954).
- ⁷⁷ H. Michl, *Mh. Chem.* **83**, 210 (1952) und unveröffentlichte Versuche.
- ⁷⁸ Th. Wieland und L. Wirth, *Angew. Chem.* **62**, 473 (1950).
- ⁷⁹ W. Grassmann und K. Hannig, *Klin. Wschr.* **32**, 838 (1954).



Freie - Zonen - Elektrophorese

Abb. 1.

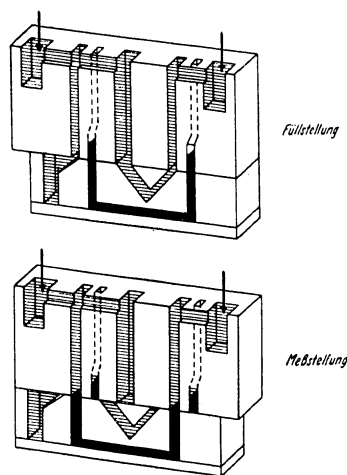


Abb. 2^a.

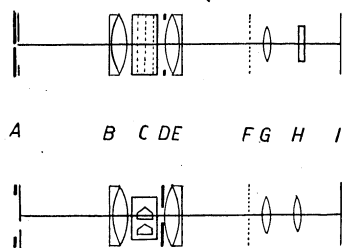


Abb. 3. Oben: Aufriß, Unten: Grundriß. A. Dicke Linie; Schnitt durch den horizontalen Spalt; dünne Linie; Schnitt durch den vertikalen Spalt. B. und E. Schleifenköpfe, C. Zelle, D. Blende, F. Schräger Draht, G. Photographisches Objektive, H. Zylinderlinse, I. Photographische Platte.

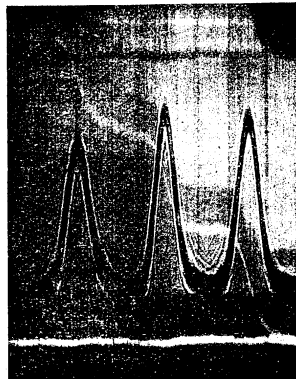


Abb. 4.

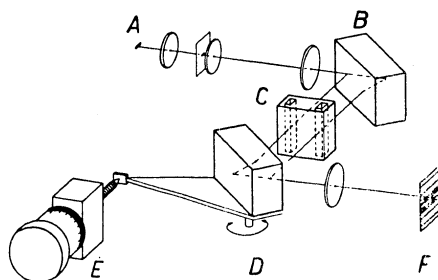


Abb. 5. A. Lichtquelle (beleuchteter Spalt), B. Jaminplatte, C. Küvette mit Meß- und Vergleichskanal, D. Kompensationsjaminplatte, E. Meßschraube, F. Beugungsfiguren.

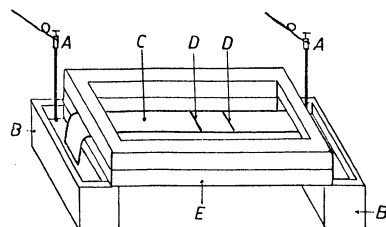


Abb. 6. A. Elektroden, B. Puffergefäße, C. Filterpapierstreifen, D. Substanz, E. Feuchte Kammer.

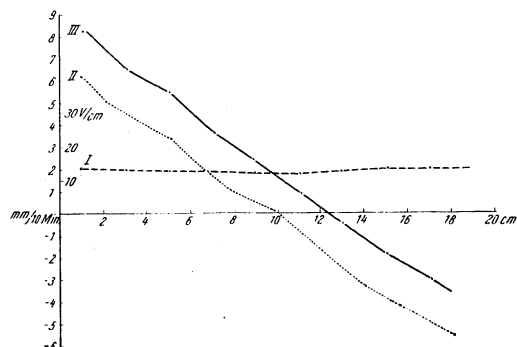


Abb. 7. I. Spannungsgefälle in Volt pro cm. II. Strömungsgeschwindigkeit des Puffers in mm pro 10 Minuten. III. Resultierende Geschwindigkeit eines Teilchens mit der Beweglichkeit von $2,5 \cdot 10^{-4} \text{ cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{sek}^{-1}$.

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

Mikrobestimmung des Fluors in organischen Substanzen.

Von

Gerald Kainz und Ferdinand Schöller.

(Eingelangt am 31. März 1955.)

In jüngster Zeit ist die Bedeutung organischer Fluorsubstanzen sowohl in wissenschaftlicher, ganz besonders aber in technischer Hinsicht gestiegen. Damit wurde eine exakte, serienmäßig ausführbare Analyse solcher Verbindungen ein Gebot der Notwendigkeit. Zunächst wurde, zum Teil bedingt durch das große technische Interesse, die Entwicklung von Makroverfahren bevorzugt. Man kann heute sagen, daß bereits einige ganz ausgezeichnete Makromethoden vorliegen (vgl. z. B. *Elving*¹, *Kimball*², *Gilbert*³).

Hingegen ist die Entwicklung geeigneter Mikroverfahren noch sehr im Fluß. Hauptsächlich liegt dies daran, daß die bei den Makroverfahren bewährten Methoden im Mikromaßstab schlecht anwendbar sind (vgl. *Belcher*⁴). So versagt z. B. die Fällung als Bleichlorfluorid. Titrimetrisch läßt sich Fluorid zwar in Mikromengen bestimmen, doch sind hierfür reine Fluoridlösungen Voraussetzung. In Verbindung mit einer Aufschlußmethode ist die Titration jedoch durch große Neutralsalzmengen oder wegen zu großer Verdünnung beeinträchtigt. Man hat versucht, die Störung durch Neutralsalze zu umgehen, indem man mit salzhaltigen Vergleichslösungen arbeitete⁴. Weiters wurde versucht, das Fluorid durch Destillation abzutrennen. Diese Methodik ist aber zeitraubend, zumal große Volumina abdestilliert und wieder eingeeengt werden müssen*.

* Eine Abtrennung durch Destillation wäre sonst nur bei fluorhaltigen metallorganischen Verbindungen nötig, deren Metallkomponente mit Fluorid ein schwer lösliches oder komplexes Salz bildet: so z. B. Ca, Al, Fe, Zr, seltene Erden (vgl. *Willard*⁵).

Einen erfolgreicher Weg schlug *Bürger*⁶ ein, indem er statt einer visuellen Titration eine kolorimetrische Methode (nach *Steiger*⁷) anwendete. *Bürger* mißt die Ausbleichung der Peroxytitanssäure durch Fluorid und kann damit 0,05 bis 1,2 mg Fluorid direkt in der Aufschlußlösung bestimmen. Eine ausgezeichnete Lösung haben auch *Willard* und *Horton*⁸ vorgeschlagen: sie ermitteln den Endpunkt nach photofluorometrischen Messungen durch graphische Extrapolation.

Obwohl diese beiden Verfahren^{6,8} recht gut sind, so erfordern sie doch einen gewissen apparativen Aufwand. In der vorliegenden Arbeit haben wir uns daher die Aufgabe gestellt, auch ohne diesen Aufwand eine einfache und schnelle Fluorbestimmung auszuarbeiten.

Zur Lösung dieser Aufgabe schien uns folgender Arbeitsgang zweckmäßig: Aufschluß der organischen Substanz mit Kalium, Entfernung aller die Titration störenden Beimengungen und maßanalytische Bestimmung des Fluorids in der Aufschlußlösung mit Thoriumnitrat.

Der Aufschluß.

Bekanntlich ist die quantitative Zerstörung organischer Fluorsubstanzen ziemlich schwierig, zumal die Trennungsenergie für die C-F-Bindung sehr hoch liegt*. Hierzu kommt noch, daß die organischen

* Zum Vergleich seien die Trennungsarbeiten für die Halogen-Kohlenstoff-Bindungen angeführt: C-F: 114 Cal, C-Cl: 72 Cal, C-Br: 59 Cal, C-J: 45 Cal.

Fluorsubstanzen tiefere Schmelz- und Siedepunkte als die übrigen Halogensubstanzen aufweisen und sich daher eher ihrer Zerstörung entziehen.

Wie *Zinneke*¹⁰ bei der Analyse organischer Fluorsubstanzen im Makromaßstab aufgezeigt hat, stellt der Kaliumaufschluß die zur Zeit beste und verläßlichste Aufschlußmethode dar. Es war daher naheliegend, auch im Mikromaßstab Kalium zu verwenden, zumal sich der Kaliumaufschluß bei der Analyse der übrigen organischen Halogenverbindungen (vgl. *Kainz*¹¹) bestens bewährt hatte. Während beim Makroverfahren (vgl. *Kimball*¹², *Gilbert*¹³) und beim Mikroverfahren (vgl. *Belcher*⁴) eine Nickelbombe, die eine Stunde auf 600° erhitzt werden muß, erforderlich ist, haben wir es vorgezogen, im geschlossenen Glasröhrchen (nach *Bürger*¹², *Zimmermann*¹³) zu arbeiten. Dadurch konnte die Aufschlußzeit von einer Stunde auf drei Minuten verkürzt werden. Es gelang auf diese Weise, auch als besonders schwierig aufschließbar geltende Substanzen (z. B. Benzotrifluorid) quantitativ zu zerstören. Hinderlich war anfangs, daß gewisse Glassorten einen Fluoridblindwert aufwiesen, doch gelang es uns, diesen Blindwert durch Auskochen der Röhrchen mit Salzsäure gänzlich zu beseitigen.

Aufarbeitung des Aufschlusses.

Wie bereits eingangs erwähnt, beeinträchtigen (vom Aufschluß herührende) große Neutralsalmengen die visuelle Erkennbarkeit des Titrationsendpunktes. Außerdem verschieben Neutralsalze den Endpunkt der Fluoridtitration. Ferner stört nach *Belcher*⁴ das beim Aufschluß schwefel- oder stickstoffhaltiger Substanzen gebildete Sulfid, bzw. Cyanid.

Eine exakte Möglichkeit zur Entfernung dieser Störungen besteht im Abdestillieren des Fluorids aus perchlorsaurer Lösung. Hierzu sind jedoch mindestens 50 bis 100 ml Destillat erforderlich, das vor der Titration wieder eingeeengt werden muß (vgl. *Willard*⁵). Es gelang uns nun, einen einfacheren Weg zu finden.

Die Störung durch Neutralsalze läßt sich wesentlich vermindern, wenn man zum Aufschluß eine geringe Menge Kalium nimmt. Wir konnten zeigen, daß schon 0,05 bis 0,06 g Kalium zum quantitativen Aufschluß der organischen Substanz genügen. Der bei dieser Kaliummenge auftretende Titrationsfehler ist gering und läßt sich experimentell umgehen, in dem man die Titerstellung in Gegenwart der gleichen Menge Kaliumsalz, wie sie nach dem Aufschluß vorhanden ist, durchführt.

Bezüglich des Cyanids und Sulfids stellten wir — im Gegensatz zu *Belcher*⁴ — fest, daß diese im Ausmaße, wie sie beim Aufschluß entstehen, nicht stören. Dadurch erübrigt sich das Wegkochen derselben aus angesäuerter Lösung, das zu Fluoridverlusten führt.

Die Aufarbeitung des Aufschlusses ist daher sehr einfach: nach Zerstörung des Kaliums wird die Aufschlußkohle durch Filtration entfernt; sodann kann sofort titriert werden.

Titration.

Für die Fluoridtitration sind zahlreiche Verfahren vorgeschlagen worden, die bestrebt sind, den an sich nicht besonders scharfen Farbumschlag beim Endpunkt der Titration besser feststellen zu können (vgl. die ausgezeichneten Übersichten bei *Geyer*¹⁴, *Rinck*¹⁵). Von allen maßanalytischen Bestimmungen mit visueller Erkennung des Umschlagpunktes schien uns die Thoriumnitrattitration (mit Alizarinrot S als Indikator) am besten geeignet. Hierbei hat sich der von *Ballezo*¹⁶ vorgeschlagene Zusatz von Methylenblau gut bewährt, der ähnlichdem bereits bekannten Tashiroindikator¹⁷ wirkt. Eine weitere Verbesserung des Farbumschlages erzielten wir, in dem wir statt Methylenblau Wasserblau oder Chinablau (hergestellt von BASF) verwendeten. Als besonders wesentlich erachten wir ferner eine stets genau reproduzierbare pH-Einstellung, die man bisher oft nur durch Säurezusatz vornahm. Wir verwenden eine Glycin-Perchlorsäure-Puffer-Lösung (pH = 3.3).

Zusammenfassend läßt sich also sagen, daß man Fluor in organischen Substanzen analog den anderen Halogenverbindungen relativ rasch und einfach mittels Kaliumaufschluß bestimmen kann.

Apparatives.

Aufschlußröhrchen: wie bereits früher¹¹ beschrieben.
Filtriervorrichtung: besteht aus Heberrohr mit *Preglschem* Filterröhrchen und Absaugeprouvette¹⁸.

Reagenzien.

Kalium: aufbewahrt in Petroläther; zur Bestimmung wird ein Stück von $3 \times 3 \times 3$ mm verwendet.
Perchlorsäure: 10%ige Lösung; Tropfpipette.
Alizarinrot S: 0,05%ige wäßrige Lösung; Meßpipette.
Wasserblau oder Chinablau: 0,01%ige wäßrige Lösung; Meßpipette.
Thoriumnitrat: 0,02-n Lösung; automatische Mikrobürette.
Pufferlösung: 6,7 g Glycin, 11 g Natriumperchlorat und 11 ml 1n-Perchlorsäure, aufgefüllt mit Wasser ad 100 ml; Meßpipette.

Durchführung der Bestimmung.

Kaliumaufschluß: Etwa 3 bis 4 mg der organischen Fluorsubstanz werden in einem Wägeröhrchen, Flüssigkeiten in einer Kapillare eingewogen. Die Substanz wird in das Aufschlußröhrchen gebracht und, wie bereits früher beschrieben¹¹, mit Kalium (50 bis 60 mg) aufgeschlossen.

Aufarbeitung des Aufschlusses: Das Aufschlußröhrchen wird an der Spitze aufgebrochen und oberhalb des Kaliumringes entzweigeschnitten. Das Stück mit der Aufschlußmasse bricht man (nach Anritzen) über einem trockenen 100-ml-Erlenmeyerkolben in zwei Teile und läßt diese in das Kölbchen gleiten. Die Zerstörung des Kaliums erfolgt mit 2 ml Methanol. Nachdem die Hauptreaktion abgeklungen ist, setzt man unter Umschütteln in kleinen Portionen etwa 5 ml Wasser zu. Nun wird von der Aufschlußkohle abfiltriert und viermal mit je 2,5 ml kochendem Wasser nachgewaschen. Als Filterschicht dient Watte/Zellulosepulver oder Watte allein. Das Filtrationsvolumen beträgt 15 bis maximal 20 ml. Als Filterschicht dient Watte/Zellulosepulver. Das Filtrationsvolumen beträgt 15 bis maximal 20 ml.

Nach Abkühlung werden 0,5 ml Alizarin-Indikatorlösung zugesetzt und mit 10%iger Perchlorsäure neutralisiert (Umschlag von Rot auf Gelb). Sodann gibt man noch 2 ml Pufferlösung zu.

Titration: Zunächst wird eine Lösung von Wasserblau oder Chinablau bis zur Grünfärbung zugesetzt (ca. 0,2 ml). Die Titration erfolgt mit 0,02-n Thoriumnitratlösung gegen eine Vergleichslösung. Diese stellt man sich so her, daß man z. B. 20 ml Wasser mit Indikator und Puffer versetzt (wie oben) und bis zum erkennbaren Farbumschlag (rot-violett) mit Thoriumnitrat titriert. Die Titerstellung des Thoriumnitrats wird mit Natriumfluorid, das nach *Willard*⁵ gereinigt wurde, unter Zusatz von 0,15 g Kaliumnitrat durchgeführt.

Dauer der Bestimmung in Serie: 15 bis 20 Minuten. Fehlergrenze: $\pm 0,4\%$.

An dieser Stelle möchten wir nochmals den Farbwerken Hoechst, Frankfurt am Main, insbesondere Herrn Prokurist Dr. *Scherer*, für die wertvolle Unterstützung dieser Arbeit durch Überlassung von Testsubstanzen ergebenst danken.

Zusammenfassung.

Es wurde ein Mikroverfahren zur Bestimmung von organisch gebundenem Fluor ausgearbeitet. Die Substanz wird mit Kalium im Glasröhrchen aufgeschlossen. Die Röhrchen werden vorher durch Auskochen mit Salzsäure blindwertfrei gemacht. Die Titration des Fluoridions kann durch geeignete Maßnahmen direkt in der Aufschlußlösung erfolgen, so daß die zeitraubende Abdestillation des Fluorids erspart wird. Die Titration selbst wird in bekannter Weise mittels Thoriumnitrat durchgeführt. Als Indikatoren dienen Alizarinrot S, dem Wasserblau oder Chinablau zugesetzt ist. Zur pH-Einstellung dient ein Glycin-Perchlorsäure-Puffer.

Summary.

A micro procedure for determining organically bound fluorine has been worked out. The sample is decomposed with potassium in a small glass tube. Since potassium salts, as well as the cyanide and sulfide produced from nitrogenous and sulfur bearing materials interfere, a method is given for removing

them from the decomposition solution. The titration of the fluoride ion can thus be made directly in this solution, so that the time-consuming distilling off of the fluoride is avoided. The titration itself is conducted in the usual way with thorium nitrate. Alizarin red S with addition of methylene blue is used as indicator. The presence of amyl alcohol appears to improve the visual detection of the color change to some extent.

Literatur.

- ¹ P. J. Elving und W. B. Ligett, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **14**, 449 (1942).
- ² R. H. Kimball und L. E. Tufts, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **19**, 150 (1947).
- ³ M. J. Gilbert und J. H. Saylor, Analyt. Chemistry **22**, 196 (1950).
- ⁴ R. Belcher, E. F. Caldas, S. J. Clark und A. Macdonald, Mikrochim. Acta [Wien] **1953**, 283.
- ⁵ H. H. Willard und O. B. Winter, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **5**, 7 (1933).
- ⁶ K. Bürger, Angew. Chem. **66**, 448 (1954).
- ⁷ G. Steiger, J. Amer. Chem. Soc. **30**, 219 (1908); vgl. auch H. J. Hill und A. Reynolds, Analyt. Chemistry **22**, 448 (1950).
- ⁸ H. H. Willard und Ch. A. Horton, Analyt. Chemistry **22**, 1194 (1950).
- ⁹ G. Schiemann, Die organischen Fluorverbindungen, 1. Aufl. Darmstadt: Steinkopff, 1951, S. 2.
- ¹⁰ F. Zincke, Methoden der organischen Chemie (Houben-Weyl), 4. Aufl., 2. Band (Analytische Methoden). Stuttgart: G. Thieme, 1953, S. 219.
- ¹¹ G. Kainz, Mikrochem. **35**, 466 (1950); **38**, 124 (1951); **39**, 1 (1952).
- ¹² K. Bürger, Z. angew. Chem. **54**, 479 (1941).
- ¹³ W. Zimmermann, Mikrochem. **31**, 15 (1943); **33**, 122 (1946).
- ¹⁴ R. Geyer, Z. anorg. Chem. **252**, 42 (1944).
- ¹⁵ E. Rinck, Bull. soc. chim. France **1948**, 305.
- ¹⁶ H. Balczó, Österr. Chem.-Ztg. **50**, 146 (1949); siehe auch Mikrochem. **38**, 237 (1951).
- ¹⁷ I. M. Kolthoff, Die Maßanalyse, 2. Teil. Berlin: Springer-Verlag, 1931, S. 64.
- ¹⁸ G. Kainz, Mikrochim. Acta [Wien] **1953**, 119.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/37.

Zeilenanzahl: 640.

Brooklyn College, Brooklyn 10, N. Y.

The Use of Microtechniques in the Teaching of Chemistry.

By

Nicholas D. Cheronis.

With 9 Figures.

(Received March 1, 1955.)

The present paper deals with the general topic of the use of microtechniques in the teaching of chemistry. However, it will be largely restricted to the use of micromethods in the teaching of organic chemistry at both undergraduate and graduate college levels, the field in which the author feels competent to express himself on the basis of experience. Nevertheless, an inquiry will first be made into the philosophy of these methods of teaching, and second, a brief survey will be made of the extent to which the methods are used in the United States.

The Philosophy of the Use of Microtechniques in Chemistry.

In the author's opinion there are two general objectives. One is the introduction of microtechniques for the explicit purpose of training a microchemist—that is, a specialist who can experiment in any field of chemistry with quantities of material as small as one microgram or less. The other is that introduction of microtechniques is of advantage in all courses of chemistry, beginning with the high school and including all the standard courses of the undergraduate curriculum. It is in this latter that I and my associates have been interested for a number of years. Therefore the educational objectives of all chemical experimentation will be examined to show how micromethods offer *definite advantages* over traditional methods in their achievement.

The fundamental reason for laboratories in which students perform experiments is that chemical facts and principles are mastered in a better manner by doing than by reading about them or by seeing the teacher demonstrate. This is such a universal truth about learning processes in general that it does not require much elaboration. Even in the so-called chemistry course for non-science students which can be presented entirely by means of demonstration experiments by the lecturer, it can easily be shown that the student understands more of the properties and changes of the materials if he actually handles these materials and becomes the initiator of the changes at close range. Chemical experimentation by young students became prevalent in the more prosperous countries at the beginning of the century. However, as is well known, the methods which were introduced in colleges and high schools were the so-called macro methods involving large apparatus, flasks, condensers and beakers. Yet, as *C. L. Wilson* has pointed out¹ the application of small scale experimentation in the teaching of chemistry was considered and tried over 100 years ago, much earlier than is thought by even the most ardent supporters of these methods for laboratory instruction. It appears that *D. R. Reid* in giving evidence before the Select Committee on Education in Ireland, in 1835, recommended the use of small-scale experimentation for science teaching in schools. His students obtained a blowpipe, a test tube, slips of paper, and broad and narrow strips of glass such as the glazier discards. The microscope was used when necessary. Tests were performed on paper and on glass slides; the latter were also employed for evaporation and heating. "Every school master might provide himself

with apparatus sufficient to show thousands of experiments on a small scale."

In spite of sporadic proposals for small-scale experimentation, instruction in chemistry followed the traditional pattern—the teacher employed the same methods and techniques in transmitting knowledge that were used in his own instruction. However, beginning with about 1930 the impact of the development of microchemical techniques in Austria and also the effects of the first World War demanding economy of materials and time forced many teachers to reexamine the traditional methods.

In this process many teachers found that small-scale experimentation offers a number of definite advantages. The most important of these is the saving of time and materials. In addition the student acquires superior habits of care, cleanliness, and manipulative skill from his experience in working with small quantities. A further advantage is the small initial investment for equipment. Even in a wealthy country as the United States, this is of considerable importance because of the large number of students in high schools who are given individual laboratory practice. Moreover, less breakage and upkeep result from this type of instruction and reduction in the seriousness of possible accidents is not an inconsiderable item.

By 1940 small-scale experimentation had a notable success in the teaching of qualitative analysis at the college level. The scale of experimentation was intermediate between the so-called micro and macro methods, and has been called *semimicro*. The term became entrenched despite the charge of cacophony from some microchemists. However, the topic of terminology will be discussed later. For the present it should be pointed out that the shift to an intermediate scale between the micro and macro scales was primarily due, at least in the United States, to the fact that many of the teachers were inexperienced in micromethods, since they had no training in microchemistry and obtained discouraging results with milligram quantities.

Small scale experimentation for the teaching of organic chemistry, in the experience of the author, is based on the premise that the introduction of the student to the use of micromethods should be gradual. The teaching of elementary organic chemistry should begin with preparation of semimicro quantities of about 1 to 2 grams. We worked out the first methods by 1933/34² so that the amounts of substances could be reduced to 100 to 200 mg. After six months or a year the student undertakes the preparation of derivatives in the identification of organic compounds usually called "Qualitative Organic Analysis". In the same course the student learns the use of 10 to 25 mg of substance in the detection of functional groups. Thus he is ready for milligram scale experimentation at the end of one or one and a half years. This scale of experimentation is attained in (a) Advanced Organic Preparations, (b) Quantitative Determination of Functional Groups, (c) Elementary Organic Analysis, (d) Chemical Microscopy.

If the need for economy has been one of the factors for the introduction of small-scale experimentation in America, a wealthy country, how much greater is the necessity in other countries which are not so fortunate? I can only judge from inquiries from all parts of the world, Egypt, Iran, Afgan, etc.

Another reason for the increased popularity of micromethods in the United States is their adoption by industrial laboratories. The increased amount of exploratory work in industrial research and the wide application of micromethods in biochemical research has led to the wider use of micropreparative and microanalytical methods. Finally, organic syntheses with isotopes and all of the experimentation with radioactive elements and compounds have rendered the use of micromethods unavoidable because of the scarcity, cost and dangerous nature of most radioactive elements.

There are no data as to the extent of the application of microtechniques in the teaching of Chemistry. A rough approximation is obtained through the sale of laboratory textbooks which give instruction in such

methods. Based on such a criterion is an estimate shown in Table I.

Table I. Extent of Application of Microtechniques in the Teaching of Chemistry in the United States*.

Subject	Per Cent of Total
High School Chemistry	0.1 — 0.2
General Chemistry—(College)	0.3 — 0.5
Inorganic Qualitative Analysis—(College) ..	80 — 85
Organic Qualitative Analysis—(College) ..	15 — 20
Preparative Organic Chemistry—(College ..	
Graduate)	20 — 25

* Estimate based on sale of texts dealing with microtechniques.

It is interesting that the most notable success is in the field of inorganic qualitative analysis. This was brought about by the appearance of two textbooks between 1933 and 1935 and the willingness of a laboratory supply dealer to develop and advertise the apparatus and equipment to teach this type of course.

The use of microchemical preparative methods has lagged behind the analytical procedures. For example, the micromethods of quantitative organic analysis developed by *Pregl* gained wide acceptance in the decade following World War I. In the United States, between 1920 and 1930, a few colleges and universities added microanalytical laboratories to their chemistry departments. In most cases, however, the microanalytical laboratories remained within the domain of the "Organic Division" and performed routine elementary analyses for research workers in organic chemistry. With few exceptions, the attitude of the leaders in organic chemistry toward the use of microtechniques for teaching has varied from negative to hostile. In the opinion of the author two reasons can account for this frame of reference. One is the tradition and orthodoxy which characterize most organic chemists as compared, for example, with physical chemists. Not only in laboratory techniques, but also in the field of theories they may be likened to the successful well-to-do business men who "rightly" believe in no change and in the "status quo". The organic chemists really held the center of the chemical "stage" between 1880 and 1940, and only recently have been displaced by the rising physical and nuclear chemists.

The application of the electron structure of the atom to organic chemistry can be cited as an example of adherence to orthodoxy and reluctance to change by organic chemists. *G. N. Lewis*⁴ published his theory of the electronic structure of the atom by 1916. This electronic theory was rapidly adopted in the teaching of general, inorganic and analytical chemistry. A notable attempt to apply the electron theory to the facts and theories of organic chemistry was made by *Stieglitz*⁵, *Fry*⁶, and a few others between 1910 and 1925. However, these so-called "electronic frills" won few adherents. By and large the teaching and publications of organic chemistry between 1920 and 1940 retained the "dash-bond" system. But the new ideas were taken up by the English school, most notably by groups under *Ingold*⁶ and *Robinson*⁷ and developed in more precise theories of organic reactions. Clothed with the new raiments of "electrophilic" and "nucleophilic" the electronic theories were reintroduced in the United States between 1940 and 1950, so that today the "dash-bond" system has almost completely changed to the "dot-bond" system.

The organic chemists by their success in the synthesis of new compounds and development of new products attracted the better students who in turn went out into a rapidly expanding technological society to become leaders in industry. Thus, subconsciously at least, they became steeped in orthodoxy and unwilling to experiment with new approaches and new heresies. If the methods give rise to good products, why change them? A beginner brought up to consider the orthodox quantity of an organic preparation as 25 to 100 g will very likely attempt to synthesize new organic compounds in similar quantities.

The second important reason for the reluctance of organic chemists to adopt micromethods in teaching or in the practice of organic chemistry is that the first methods proposed for preparative organic chemistry were on the milligram scale. Consequently, the few dissenters and heretics among the organic chemists who tried them in teaching, obtained discouraging results because they themselves had no previous training in micromethods. It might be pointed out that the author belongs to the category of those who acquired micromethods by "self-application" and slow development and that this was the impelling reason for the philosophy that the use of microtechniques in the teaching of chemistry offers tremendous advantages over the traditional methods; also that their introduction and the diminution of quantities in experimentation should be gradual.

Terminology.

Before taking up a brief descriptive review of the use of microtechniques in the teaching of chemistry, a brief discussion of the terminology employed in the use of these methods is in order.

Considerable confusion exists in the area of designating the quantities involved in small-scale experimentation. The early proposals by *Emich*⁸, *Benedetti-Pichler*⁹, and other European microchemists for a logical terminology to classify microchemical experimentation as *centigram*, *milligram* and *microgram* procedures were not widely adopted. Instead, the terms *macro*, *semimicro*, *micro* and *ultramicro* became popular, particularly in America. *Pregl's* original methods for organic microanalysis were designed for a quantity of a few milligrams; the amounts used were as high as 12 to 15 mg and as low as 3 to 5 mg; however, the term "microanalysis" usually denotes the use of a few milligrams. In 1939 the Division of Microchemistry of the American Chemical Society defined microanalysis as follows¹⁰: "Microanalysis consists of techniques whose primary purpose is the ascertaining of chemical composition where the quantities dealt with are not one tenth as large as in customary laboratory practice." According to this definition, work with 25 to 50 mg would fall within the micro scale, since the classic methods of elementary organic analysis usually require 0.2- to 0.5-g samples. However, in America the range of 10 to 25 mg for organic analysis is also designated as *semimicro*¹¹. To avoid confusion the author proposed¹² that the definition of the terms *micro*, *semimicro* and *macro* should be related to the operation involved, that is, according to whether the objective is *analytical* or *preparative* in character. Table 2 represents a summary of the proposed terminology. In the last column are listed the most recent recommendations of the Committee on Nomenclature, Division of Analytical Chemistry of the American Chemical Society¹³, which, of course, do not include consideration at the usage of the terms for preparative work.

Table 2. Proposed Terminology for Small-Scale Experimentation.

Objective: Preparative		Objective: Analytical	
Term	Range of Quantities in mg	Range of Quantities in mg	
		(Author 1949)	(ACS Recommendation 1952)
Ultramicro.....	—	—	0.1 or less
Micro	1—50	0.1—10	0.1—10
Semimicro	100—2000	10—25	10 to less than 100
Macro	10—100	100 or more	100 or more

The matter of terminology, though it is important, is not one that is not subject to revision. It is true that the terms "ultramicro", "micro", "semimicro", and "macro" lack in precision, and it would have been better if the terms *microgram*, *milligram*, *centigram* procedure had been adopted. The Microchemical Congress has a duty to discuss this matter and make proposals. The survey of the application of microtechniques to the teaching of chemistry can now be made.

Application to the Teaching of Organic Chemistry.

The numbered courses in Table 3 are those with which the author has had experience in organizing and teaching. The unnumbered course is too well known to require any description. The discussion will be restricted to the first three courses, since Functional Group Analysis will be described at another time in collaboration with Dr. T. S. Ma who has undertaken the work initiated by the author in 1950-1951.

Table 3. Use of Micromethods in the Teaching of Organic Chemistry.

Course and Subject	Duration in weeks	Hrs of Lab per week	Type of Work and Scale of Quantities
(1) Introductory Organic Chemistry	30	4-6	Preparative Semimicro 100-2000 mg
(2) Qualitative Organic Analysis	15	4-6	Analytical and Preparative. Mostly 10-200 mg. Some 1-100 mg
(3) Advanced Organic Preparations	15	7-8	50% Macro 50-100 g 25-40% Semimicro 50-200 mg 25-40% Micro 1-10 mg
(4) Functional Group	15	7-8	5-15 mg
Quantitative Elementary Analysis	15	7-8	0.5-10 mg

The first detailed procedures for Introductory Organic Chemistry were worked out between 1934 and 1936 and were first published in mimeographed form, then under the title "Semimicro and Macro Organic Chemistry"¹⁴ in book form². The work has been undergoing revision for two years and the new edition is expected next year. The content of a year's work is summarized in Table 4.

Table 4. Content of Laboratory Work in Elementary Organic Chemistry Using Micromethods (120 hours).
Group I.

Procedures	Range of Quantities
1. Purification by crystallization	500 mg
2. Purification by distillation	5 ml
3. Fractional distillation	10 ml
4. Determination of melting points	1-3 mg
5. Determination of boiling points	40-100 μ l
6. Determination of refractive indices	200 μ l
7. Identification of elements	1-25 mg

A glance at the table indicates that the assignment is very large. With large equipment and macro procedures the average student normally completes 4 of the 7 introductory experiments and about 12 preparations in Group II, and about 2 experiments of Group III. Using the micromethods, the average student is able to complete all of the experiments in Groups I and III and 24 preparations (Group II).

In order to illustrate the time involved between the two types of methods, two examples will be cited. The first involves the separation of a mixture of methanol-water or carbon tetrachloride-toluene. The macro procedure involves the separation of 100 ml and requires with the assembling and disassembling of the apparatus 3 to 4 hours, while the semimicro procedure employs 10 ml of the mixture and requires 1 to 1.5 hours. The second example involves the preparation of benzoic acid by carbonation of phenylmagnesium bromide. In the macro procedure, 0.25 to 0.3 moles of the reagents are employed, while in the semimicro, the quantities are 0.02 moles. The time required for the larger quantities is double, or more, that for the smaller quantity. The larger quantity requires a three-neck flask and a stirrer, the smaller quantity an 8-inch test tube and no stirrer.

These two examples illustrate the saving of time. Since the primary objectives in the laboratory work are the acquisition of techniques and

Group II.

Preparations	Range of Quantities
1. n-Decane or n-Octane	1-2.5 g
2. Cyclohexene	2-3 g
3. n-Butyl bromide	2-3 g
4. ter-Butyl chloride	1-1.5 g
5. Methyl iodide	2-4 g
6. Ethyldimethyl carbinol	2-3 g
7. Aniline	1-1.5 g
8. Cyclopentanone	1-1.5 g
9. Benzoic or Phenylacetic acid ...	1-1.5 g
10. Ethyl acetate	1-1.5 g
11. Benzoyl chloride	500 mg
12. Benzoyl o-toluidide	500 mg
13. α -Bromopropionic acid	2 g
14. Alanine	500 mg
15. m-Dinitrobenzene	50 mg
16. 2,4,6-Tribromoaniline	50 mg
17. Iodobenzene	1-2 g
18. o-Chlorobenzoic acid	1 g
19. Phenylhydrazine hydrochloride .	1-1.5 g
20. 2,4-Dihydroxyazobenzene	500 mg
21. Benzene-azo- β -naphthol	1 g
22. 1-Amino-2-naphthol hydrochloride	500 mg
23. Sulfanilic acid	500 mg
24. Naphthoquinone	500 mg
25. Triphenylmethyl chloride	1-2 g
26. Anthraquinone	1-2 g
27. Quinoline	1-2 g
28. Sulfanilamide	500 mg

Group III.

Experiments in the Study of Properties	Range of Quantities, mg
1. Properties of hydrocarbons	100
2. Properties of halogen compounds .	100
3. Reactions of hydroxy compounds*	100
4. Reactions of amines	50
5. Reactions of carbonyl compounds	50
6. Properties of carboxylic acids* ...	100
7. Properties of carbohydrates and proteins	—

* An unknown alcohol and an unknown carboxylic acid for identification are included in these experiments.

facts and the demonstration of important group reactions and principles, none of these is sacrificed by the reduction of the quantities to a tenth. Many students who take organic chemistry do not become chemists. The argument that the student must learn techniques which will enable him to prepare 100 grams or a kilo of an organic compound is only valid for the future chemist and a provision is made for such a student, to acquaint him with large apparatus, as will be shown in the subsequent discussion. However, for students who take the introductory course a great amount of time and materials are saved. Of the two, time is the more important since the student is freed for acquisition of more knowledge.

Fig. 1, 2, 3, 4 and 5 show typical setups used by students for filtration and for distillation, whether fractional, steam or vacuum. The cost of the apparatus is about one half to one third that of the corresponding macroapparatus.

Table 5 shows the content of the laboratory work in Qualitative Organic Analysis.

The procedures were developed in collaboration with Dr. John B. Entikin of Centenary College of Louisiana (Shreveport, Louisiana) and published in book form in 1947³. It is superfluous to enter into a detailed discussion of the advantages of the microtechniques as applied

Table 5. Content of Laboratory Work in Qualitative Organic Analysis Using Micromethods (60 hours).

Group I.

Preliminary Work With Known Substances	
	Range of Quantities, mg
1. Purification of solids	100-200
2. Purification of liquids	2-5
3. Test for elements	0.5-10
4. Solubility tests	5-15
5. Functional group tests	10-25
6. Preparation of derivatives	25-100
7. Fusion techniques	2-5

Group II.

1. Identification of about 8 unknown organic compounds, ranging gradually from the simpler to the more complex. For most relatively pure compounds 500 to 600 mg are given as a sample. For some (ethers, esters, etc.) the sample is 1 to 2 ml.
2. Separation and identification of the components of one or two unknown mixtures.
3. Chromatographic separation of a 2- or 3-component mixture*.

* This is a recent addition.

to analytical work. However, one example will suffice to illustrate the development of superior habits in care, cleanliness and manipulative skill through experience with micromethods. An unknown which has been tentatively identified on the basis of one or two constants, solubility and functional group tests, still requires as final criteria of acceptance or rejection of the identification, the melting points of the purified derivatives. In the macromethods described in the literature 1 to 5 grams of the derivative are usually prepared. With such amounts even a careless worker can perform 2 to 3 crystallizations and still have 100 mg of the derivative for melting point determinations. However, with reduction of the amounts of the reactants to one tenth or less, great care must be exercised; conditions must be chosen which will insure completion of the reaction, and a minimum number of crystallizations must be performed, in order to obtain the few milligrams of the pure product sufficient for several melting point determinations.

The course in Qualitative Organic Analysis is primarily for the training of chemists, although those who go into biology have found it very profitable for two reasons. First, it is an excellent review of the reactions of the various groups of organic compounds; second, it involves the application of knowledge to the solution of a problem, a positive contribution to training in reflective thinking in problems involving the identification of materials which the biologist encounters. It should also be noted that there is less reluctance by even the orthodox organic chemists toward employment of micromethods in analytical work than in the preparative field.

The apparatus employed in this course is not much different than those employed in the elementary course and has been described in detail in the works already cited. The apparatus shown in Fig. 6 is employed for the preparation of derivatives on a milligram or microgram scale. In derivatizing microquantities of an aldehyde, the "well" of the condenser is charged with a solution of methone or one of the substituted hydrazines, and the solution containing the aldehyde is introduced through the side arm. The stopcock is then closed and the vessel is gently warmed for several hours. The carbonyl compound volatilizes and reacts with the reagent in the well. Similarly, in derivatizing microquantities of a carboxylic acid, the well is charged with water, a solution of anethole or p-toluidine or other suitable reagent. The vessel is charged with the dry salt of the carboxylic acid and thionyl chloride. The vessel is warmed to volatilize the acid chloride which condenses in the well and reacts.

Table 6. Content of Discussion and Demonstrations in Advanced Organic Preparations Which Include Macro, Semimicro and Microtechniques.

Week	Discussion		Demonstrations
	Reactions	Techniques	
1.	Problems involved in organic syntheses; literature search; nomenclature	Safety rules; cleaning and drying	(a) Semimicro Grignard reagent preparation (b) Vacuum system (c) Heating, stirring
2.	Use of organometallic reagents	Distillation: vacuum and atmospheric	Micro and macro vacuum distillation
3.	Halogenation of organic compounds	Melting points; refractive indices	(a) Micro m. p. apparatus (b) Fusion techniques
4.	Reduction of organic compounds	Boiling points molecular weights	(a) Microhydrogenation (b) Macrohydrogenation
5.	Carbonyl condensations	Heating and cooling; absorption of gases	Magnetic stirrers
6.	Oxidation of organic compounds	Removal of solvents	Measurement of small volumes
7.	Amination and diazotization	Steam distillation	None
8.	Examination	Crystallization	Microcrystallization
9.	Acylation and alkylation	Sublimation molecular distillation	(a) Milligram synthesis (b) Microsublimation
10.	Esterification and hydrolysis	Filtration and crystallization	None
11.	Dehydration	Fractional distillation	None
12.	Cyclization	Extraction	Liquid-liquid and liquid-solid extractions
13.	Stepwise synthesis and degradation	Chromatography and ion exchange	(a) Paper chromatography (b) Column chromatography
14.	Isotope synthesis		

Turning to the last course, Advanced Organic Preparations, it should be stated that its primary objective is to acquaint the student with some of the more important methods which are employed in the synthesis of organic compounds. The course consists of one hour of discussion of reactions, about a halfhour's discussion of techniques and the balance of 6 to 8 hours is devoted to the preparations assigned. This type of course is very old and to the knowledge of the author, macroquantities have always been employed at least in the United States. As previously stated, there is ample justification for this practice, since the training of an organic chemist involves not only learning the reactions by which chemical compounds may be synthesized, but the ability to carry them out in practice. It is reasonable to expect a practicing organic chemist to be able to synthesize 50 to 500 g of a compound which has been described in the literature. However, such a chemist should also be able to synthesize, if the necessity arises, a few hundred mg and even much less of a compound. Therefore, about two years ago experimentation was initiated with the course in Advanced Organic Preparations, in order to introduce some work with micromethods. It should be noted that it is given at the graduate level and most of the students have had little or no training in micromethods. The content of the discussion and

demonstration is given in Table 6.

The most important part of the work is the laboratory assignment to the student. Generally each student is assigned eight to ten preparations which illustrate important synthetic methods. Table 7 gives a summary of the assignments to two students.

Table 7. Compounds Assigned for Preparation in Advanced Synthetic Organic Chemistry Including Macro, Semimicro and Micro Techniques.

	Compounds Assigned for Preparation		Scale of Preparation	Reaction Illustrated
	Student A	Student B		
1.	Dimethyl-n-butyl carbinol	Methyl isopropyl carbinol	Semimicro	Use of Grignard reagents
2.	o-Phthalaldehyde	1,5-Dibromopentane	Macro	Halogenation
3.	β , γ -Benzotropolone	α -Methylcinnamic acid	Macro	Carbonyl condensation
4.	μ -Phenylethylamine	1,4-Cyclohexanediol	Macro	Catalytic hydrogenation
5.	p-Aminophenol	Piperonyl alcohol	Semimicro	Catalytic hydrogenation
6.	β -Benzoylacrylic acid	1,4-Dibenzoylbutane	Macro	Acylation by Friedel-Crafts method
7.	dl-N-acetylnorvaline	α -Aminodecanoic	Macro	Use of malonic ester synthesis
8.	Diphenic acid	1,2-Aminonaphthol hydrochloride	Semimicro	Diazotization and coupling
9.	1,2,3-Benzotriazole	1,2,3,4-Tetrahydrocarbazole	Macro	Heterocyclic synthesis
10.	Thymol- α -naphthylurethan	3-Pentanone semicarbazone	Micro (milligram)	Derivatization and fractional sublimation

It will be noted that of the ten preparations assigned, six employ macroquantities; that is, the yield is between 25 and 100 g. Three preparations are in the range of 500 mg to 2 g, while one is in the range of 1 to 5 mg. The assignment is made on the basis of a number of criteria such as the relative ease of preparation, the presence of good working directions in the literature, the use of the maximum possible number of different types of apparatus and techniques.

Few students are able to finish ten preparations, most finish between six and eight. In general, practically all students completed two or three preparations involving the use of micromethods. The interest shown justified continued experimentation.

Fig. 7, 8 and 9 show a few of the pieces of apparatus employed in this course. Fig. 7 represents an assembly for fractionation. The packing is either glass helices, or Poddelniak or Heli-Grid type. Fig. 8 shows the latest modification of the universal assembly, originally published in *Mikrochemie*¹⁵. Fig. 9 represents apparatus for the micropreparation of a Grignard reagent.

The topic of teaching high school and introductory general chemistry at the college has been occupying our attention for the past 4 years. The progress which is being made will be reported at another time. However, it is believed that it is in this field that the advantages of small scale experimentation will have the greatest success, since their advantages will be brought to the attention of the future scientist at an early stage of training.

Summary.

It was pointed out that although small scale experimentation, micro-methods, and microtechniques were considered for teaching even at elementary level over 100 years ago, their adoption has been very slow,

and to a very large extent they have remained in the realm of the specialist. Though it may appear strange at first sight that there should be reluctance to experiment with methods of teaching science, an area of knowledge whose very heart is continuous experimentation, a small amount of reflection will show that teaching methods are a part of the sum total of the complex called "culture" which changes only slowly over a period of centuries. There is a definite trend towards the adoption of these methods for teaching chemistry not only at the college level, but also at the intermediate educational level, not alone because of the saving of time and materials but also because micromethods impart superior disciplines.

Zusammenfassung.

Die Verwendung von Mikromethoden beim Unterricht in organischer Chemie (Graduate und Undergraduate Niveau) wird besprochen. Sie kann zweierlei Ziele verfolgen: die Ausbildung von Mikrochemikern und die Verbesserung des Chemieunterrichtes im allgemeinen von der Mittelschule bis zur Hochschule. Die Ziele des Laboratoriumsunterrichtes und die Vorteile des Arbeitens im kleinen Maßstab werden kritisch besprochen. Die Umstände, die zu weitgehender Annahme von Mikromethoden in einigen Lehrgegenständen (z. B. qualitative Analyse) geführt haben, werden mit jenen verglichen, die eine breite Anwendung dieser Methoden in anderen Lehrgegenständen (z. B. organischer präparativer Chemie) verhindert haben.

Die vom Verfasser während der letzten 25 Jahre zur Ausbildung in organischer Chemie entwickelten Unterrichtskurse werden eingehend beschrieben. Es wird bei diesen Kursen von dem Grundsatz ausgegangen, die Substanzmengen allmählich zu verkleinern: (a) Der Anfängerkurs umfaßt die üblichen Verfahren zur Herstellung von geeigneten Vertretern der wichtigsten Klassen organischer Verbindungen und das Studium ihrer Eigenschaften; hierzu werden Substanzmengen von 100 bis 2000 mg verwendet. (b) Der Kurs in qualitativer organischer Analyse umfaßt Fraktionierungsverfahren, Bestimmung von physikalischen Konstanten und Verfahren zur Klassifizierung unbekannter Substanzen und zur Darstellung von Derivaten derselben; die verwendeten Substanzmengen liegen zwischen 1 mg und 100 mg. (c) Im Kurs für Vorgeschrittene in organischer Synthese werden 50% der üblichen Versuche mit Mengen von 50 bis 100 g ausgeführt; 25% der Versuche wurden mit Substanzmengen von 50 bis 200 mg und die übrigen mit Substanzmengen von 0,5 bis 10 mg ausgeführt. Derartig ausgebildete Studenten können ohne Schwierigkeit in Mikroverfahren für die Bestimmung von funktionellen Gruppen oder für die quantitative Elementaranalyse unterwiesen werden. Apparate, wie sie in diesen Kursen benutzt werden, sind kurz beschrieben.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß die Verwendung von Mikroverfahren im Unterricht das Interesse an experimenteller Arbeit erhöht. Abgesehen von Zeit- und Materialersparnis muß anerkannt werden, daß die Studenten zu größerer Sorgfalt, Reinlichkeit und manueller Geschicklichkeit erzogen werden.

Literature.

- ¹ C. L. Wilson, *Mikrochim. Acta* [Wien] 1953, 58.
- ² N. D. Cheronis, *Laboratory Manual of Organic Chemistry*. Chicago City College (Wright). 1935.
- ³ N. D. Cheronis and J. B. Entrikin, *Semimicro Qualitative Organic Analysis*. New York: Crowell. 1947.
- ⁴ G. N. Lewis, *J. Amer. Chem. Soc.* 38, 762 (1916).
- ⁵ J. Stieglitz, *J. Amer. Chem. Soc.* 23, 797 (1907); 36, 238 (1914); 38, 2064 (1916). H. S. Fry, *J. Amer. Chem. Soc.* 34, 667 (1912); 36, 248 (1914); 38, 1324 (1916).
- ⁶ C. K. Ingold, *Chem. Rev.* 15, 225 (1934).
- ⁷ R. Robinson, *Outline of an Electrochemical Theory of the Course of Organic Reactions*. The Institute of Chemistry of Great Britain and Ireland. 1932.
- ⁸ F. Emich, *Mikrochemisches Praktikum*. München: Bergmann. 1924. p. 1.
- ⁹ A. A. Benedetti-Pichler, *Introduction to the Microtechnique of Inorganic Analysis*. New York: Wiley. 1942. p. 2.
- ¹⁰ *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* 11, 111 (1939).
- ¹¹ E. P. Clark, *Semimicro Quantitative Organic Analysis*. New York: Academic Press. 1943.
- ¹² N. D. Cheronis and M. Savoy, *Micro and Semimicro Techniques in Preparative and Analytical Hydrocarbon Chemistry*. San Francisco Meeting, ACS, April, 1940. N. D. Cheronis, *Micro and Semimicro Methods*. New York: Interscience Publ. 1954. p. 8.
- ¹³ *Analyt. Chemistry* 24, 1348 (1952).
- ¹⁴ N. D. Cheronis, *Semimicro and Macro Organic Chemistry*. New York: Crowell. 1942.
- ¹⁵ N. D. Cheronis and A. Vavoulis, *Mikrochem.* 38, 428 (1952).

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/38.

Zeilenanzahl: 612.

Aus dem Institut für anorganische und analytische Chemie der L. Eötvös-Universität, Budapest.

Neue Wege in der Gasanalyse.

I. Tensionsmessung auf mikrochemischem Wege (Dampfraumanalyse).

Von

E. Schulek, E. Pungor und J. Trompler.

Mit 5 Abbildungen.

(Eingelangt am 4. April 1955.)

Über die prinzipiellen Gesichtspunkte der Gasanalyse.

Bei den in der Gasanalyse allgemein gebrauchten Verfahren läßt man die gesamte in einer Gasbürette gesammelte Gasmenge in der Weise reagieren, daß nur eine bestimmte Komponente des Gasgemisches in Reaktion tritt, wodurch diese aus dem Gasgemisch verschwindet. Aus dem verbliebenen Rest wird die Menge der zu bestimmenden Komponente berechnet. Zur Durchführung der Messung sind zwei Arten gebräuchlich. Im einen Falle mißt man den veränderten Druck des Gases vor und nach beendigter Reaktion bei konstantem Volumen, im anderen bei konstantem Druck die Verminderung des Gasvolumens. In beiden Fällen muß die gesamte Gasmenge in Reaktion gebracht werden. Dadurch verunreinigt man oft das Gasgemisch mit bisher nicht vorhandenen Komponenten; die Zusammensetzung des Gasgemisches wird also verändert. Häufig läßt man das Gasgemisch mit einer bekannten Menge eines anderen Gases reagieren, was natürlich die Quelle weiterer Fehler sein kann. Die Verunreinigungen sind meistens so geringfügig, daß sie die Meßergebnisse praktisch kaum beeinträchtigen, doch ist es prinzipiell nicht richtig, da jede Flüssigkeit, mit der das Gas in Berührung kommt, eine bestimmte Tension hat. Das nach der Reaktion in die Gasbürette zurückgeführte Gas kann außerdem, da es den in Reaktion getretenen Bestandteil nicht mehr enthält, eine andere Zusammensetzung haben, weil darin neue Bestandteile anwesend sein können. Volumen und Druck werden in vielen Fällen nach der Reaktion nicht den erwarteten Zustand anzeigen, da die später zu bestimmenden Komponenten nicht mehr die Komponenten des ursprünglichen, sondern des im Laufe der Reaktionen gebildeten neuen Gasgemisches sind. Ein prinzipieller Fehler der Gasanalyse ist weiter, daß die wahren und die aus dem Molgewicht mit Hilfe des Avogadro'schen Gesetzes berechneten Litergewichte der Gase und Gasgemische in manchen Fällen in nicht zu vernachlässigendem Maße voneinander abweichen. Infolgedessen kann das Litergewicht des verbliebenen Gases nach Entfernen der einzelnen Bestandteile verändert sein.

Mit diesen Problemen tritt die Frage in den Vordergrund, ob es möglich wäre, solche gasanalytische Verfahren auszuarbeiten, die von den erwähnten Fehlern frei wären. Eine solche ideale Möglichkeit ist nicht erreichbar, da die Tension der Sperrflüssigkeit als Fehlerquelle immer vorhanden ist. Annähernd ist jedoch dieser ideale Fall zu verwirklichen, wenn man eine Verunreinigung des Gases, außer der von der Sperrflüssigkeit stammenden, vermeidet. Man läßt also nicht die gesamte Gasmenge, sondern nur einen bestimmten Teil davon reagieren. Das nach der Reaktion verbliebene Gas wird nicht in die Gasbürette zurückgeführt. Es werden solche Reaktionen ausgewählt, mit denen die einzelnen Komponenten aus besonderen Anteilen, etwa nach Entfernung der störenden Bestandteile, bestimmt werden können. Zieht man bei den

Messungen das Litergewicht (absolute Dichte) des Gasgemisches in Betracht, so kann der zuletzt erwähnte prinzipielle Fehler der Gasanalyse vermieden werden, vorausgesetzt, daß bei der Bestimmung der Dichte des Gasgemisches die Tension der Sperrflüssigkeit auch beachtet wird.

Es bedeutet ein neues Problem, wenn man die Mengen der Komponenten im Dampfraum eines aus einer oder mehreren flüssigen bzw. festen Komponenten bestehenden Systems bestimmen will. In solchen Fällen sind die üblichen gasanalytischen Verfahren schon aus prinzipiellen Gründen unbrauchbar.

Zweckmäßig wählt man eine Sperrflüssigkeit, deren Tension vernachlässigbar klein ist.

Die Anwendung von maßanalytischen Verfahren in der Gasanalyse ist nicht neu, doch beschränkten sich die früheren Methoden nur auf die Bestimmung von einigen Bestandteilen.

Wir sind der Meinung, daß es auf Grund der erwähnten Gesichtspunkte der Mühe wert ist, solche gasanalytische Methoden auszuarbeiten bzw. ein solches — die Gasbürette ersetzendes — Gasmeßgerät zu konstruieren, womit man beliebige, nötigenfalls auch geringe Gasmengen oder, im Fall heterogener Systeme, den über flüssiger oder fester Phase stehenden Dampf, eventuell auch bei verschiedener Temperatur, auch in Gegenwart von Luft und beliebigen Gasen, aber nur beim jeweiligen Barometerstand, mit analytischer Genauigkeit (0,01 ml) messen kann.

Prinzip der in Vorschlag gebrachten Methode.

Es wird vorgeschlagen, separate Anteile aus dem vorliegenden Gasgemisch zur Bestimmung der einzelnen Bestandteile zu entnehmen, um diese einzeln reagieren zu lassen. Das Gasgemisch wird in einem Behälter aufbewahrt. Das Abmessen der Gasproben hätten wir mit den eingangs erwähnten, allgemein gebrauchten zwei Methoden ausführen können, nämlich bei konstantem Druck die Volumabnahme¹ oder bei konstantem Volumen die Druckabnahme² zu bestimmen. Diese Methoden werden aber von uns nicht angewendet, weil die Untersuchung der Dampfphase heterogener Systeme das Ausarbeiten eines neuen Meßverfahrens erfordert, das wir auch bei unseren gasanalytischen Untersuchungen sehr vorteilhaft verwenden können. Zum Abmessen der Gasmenge benützen wir das Prinzip der Volumänderung bei konstantem Druck, doch stellen wir nicht die Volumverminderung des Gases, sondern die zum Verdrängen des Gases nötige Menge der Sperrflüssigkeit fest. In der ersten Ausführung verbanden wir den Gasbehälter mittels eines Gummischlauches mit einer in Zwanzigstel-Milliliter geteilten Bürette. Vor der Entnahme der Gasprobe stellten wir die Bürette so ein, daß die Menisken in dieser und im Gasbehälter gleich hoch stehen. Nun wurde der Hahn der Bürette geschlossen und Sperrflüssigkeit bis zur Marke aufgefüllt. Nach der Entnahme einer bestimmten Gasmenge wurde in beschriebener Weise der innere und äußere Druck ausgeglichen und an der Bürette die Differenz abgelesen. Diese Ablesungsart ist aber, besonders bei schweren Sperrflüssigkeiten (Quecksilber) nicht fehlerfrei, da sich der Gummischlauch, der Flüssigkeitssäule entsprechend, ausdehnt. Aus diesem Grunde verwenden wir statt des Gummischlauches Glasverbindungen, wurden aber dadurch zur Konstruktion einer neuen Bürettenart gezwungen, in der das Einstellen des Meniskus der Sperrflüssigkeit auf gleiche Höhe mit dem des Gasbehälters, ohne die Bürette zu bewegen, möglich ist.

Beschreibung des Gas- bzw. Dampfmeßgerätes.

Das Gerät besteht aus zwei Teilen: aus dem Gas- bzw. Dampfbehälter und aus der damit Glas an Glas verbundenen, mit Sperrflüssigkeit (meistens Quecksilber) gefüllten, automatischen Doppelbürette.

Zum Arbeiten mit Gasen dient der gebräuchliche, oben und unten mit einem Karlsruher Hahn versehene, etwa 150 ml fassende (innerer Durchmesser: ca. 30 mm, Länge: ca. 200 mm) zylindrische Gasbehälter (Abb. 1). Dieser ist oben ein wenig verengt und endet mit einem Schliff. In diesen etwa 25 mm langen Schliff paßt ein massiver Glasstöpsel, an den ein

Dreiweghahn angeschmolzen ist. Die Rohre des Stopfens und des Hahnes sind dickwandige Kapillaren; die beiden letzteren verlaufen waagrecht. Eine davon biegt nach 2 cm waagrecht Richtung vertikal nach aufwärts und ist 4 cm lang. (Der Hahnstopfen ist in den meisten Fällen überflüssig, da der erwähnte Hahn direkt angeschmolzen werden kann.) Unten endet der Behälter in einen kapillaren Dreiweghahn mit massivem Glasküken. Die beiden unteren Zweige des Hahnes sind nach 2 cm Länge in senkrechter Richtung nach unten gebogen. Der eine Zweig ist, wie Abb. 1 zeigt, mittels einer zweimal rechtwinkelig gebogenen dickwandigen Kapillare (Lumen: 2 mm) Glas an Glas mit einem Vakuumgummischlauch-Stückchen an die mit der Sperrflüssigkeit (Quecksilber) gefüllte Bürette angeschlossen. Den Gasbehälter und das dazugehörige Thermometer umschließt ein um 5 bis 8 cm weiter Glaszylinder, der, oben und unten verschlossen, mittels der beiden Rohrstutzen an einen Ultrathermostaten angeschlossen ist, um die Temperatur des Gases konstant zu halten. Den Thermostaten stellen wir so ein, daß dessen Temperatur von der des Raumes kaum abweicht ($\pm 1^\circ \text{C}$), wodurch die Anwendbarkeit von Quecksilber als Sperrflüssigkeit gesichert ist.

Eine schwer zu lösende Aufgabe war, den Apparat so zu konstruieren, daß zwei, eventuell drei Phasen und mehrere Komponenten enthaltende Systeme so untergebracht werden können, daß aus dem Gas- bzw. Dampf-raum bei gegebener Temperatur und gegebenem Druck Gas- bzw. Dampfanteile mit analytischer Genauigkeit zur Analyse entnommen werden können. Das Ausarbeiten entsprechender mikroanalytischer Verfahren ist in diesem Falle eine leichtere und später zu lösende Aufgabe.

Der Querschnitt des Gasbehälters unseres Apparates ist aus Abb. 2 ersichtlich. Der untere Teil *A* ist ein ca. 150 ml fassender, 60 mm weiter und 70 mm hoher Glaszylinder, in den die bis zum Boden reichende, 25 mm weite und 290 mm lange Glasröhre *B* eingeschmolzen ist. Diese ist in den 70 mm weiten und 70 mm hohen, zylindrischen oberen Teil *C* so eingeschmolzen, daß sie etwa 20 mm hineinragt, wodurch am Boden des Teiles *C* ein Trog gebildet wird. An den unteren Teil *A* des Apparates ist ein 60 bis 80 mm langes Glasrohr von 3 mm lichter Weite angeschmolzen, das durch die Wand des Thermostaten dringt und mittels eines Vakuumschlauchstückes Glas an Glas mit der Meßeinrichtung verbunden ist. In den Trog des Teiles *C* ist ein als Manometer dienendes, erst 50 mm nach abwärts, dann ca. 300 mm nach aufwärts gebogenes Glasrohr *D* von 2 mm lichter Weite angeschmolzen. Dieses Rohr ist an entsprechender Stelle mit einer Millimeteinteilung versehen, um den Stand der Flüssigkeit kontrollieren zu können. Zur Erleichterung der Druckeinstellung kann ein beweglicher Metallzeiger neben der Manometerröhre angebracht werden. Den zylindrischen Teil *C* unseres Behälters schließt der Hahn *E* ab. Das Hahngehäuse ist oben kelchartig erweitert, unten in den Dampfraum *C* reichend ist es zurückgebogen und bildet einen kleinen Trog. Die obere kelchartige Erweiterung und der untere Trog ermöglichen das vollkommene Abschließen des Hahnkükens mit Flüssigkeit (Quecksilber). Am unteren Drittel des Hahngehäuses befindet sich eine 1 mm große, runde Öffnung, an die ein weiteres Ableitungsrohr *F* angeschmolzen ist, das von der runden Öffnung auf 4 bis 5 mm Länge höchstens 1 mm lichte Weite hat. Beinahe bis an den Boden der Ableitungsröhre reicht eine Kapillare, die oben in waagrechtlicher Richtung weiter führt und Glas an Glas mit dem Gasometer *G* verbunden ist. Das Ableitungsrohr *F*, in waagrechtlicher Richtung ca. 10 cm lang, ist dann im stumpfen Winkel nach unten gebogen und endet in einer pfeifenartig aufgebogenen Kapillare. An den Schliff dieser Kapillare kann man die Reaktorröhre *H* mit Jenaer Glasfilter G 3 setzen. Die Reaktorröhre *H* ist durch einen Glasstopfen mit einem Hahn verschließbar. Diesen Hahn verbinden wir über ein Nadelventil mit einer Wasserstrahlpumpe. Das Nadelventil dient zur genauen Einstellung des Luftstromes. Das in das Gehäuse passende Küken *I* ist 80 mm lang, innen hohl und ein in der Hälfte schief abgeschlossener konischer Hahn. Der untere Durchmesser des Konus beträgt 30 mm. Der Hahn muß vollkommen fehlerfrei, feinst geschliffen sein und so tief in den Trog des Hahngehäuses reichen, daß das in den Trog gegossene Quecksilber genauesten Verschuß

gewährleistet. (*Dieser Hahn darf nicht mit Schmiermitteln behandelt werden!*) Der Durchbohrung des Hahngehäuses entsprechend, ist im Kükens eine 1 mm weite, runde Bohrung angebracht. Die beiden Bohrungen müssen gleichen Durchmesser haben. (*Den hier kondensierten Dampf könnte sonst der Luftstrom in den Reaktor H treiben!*) Es ist zu bemerken, daß der schiefe Abschluß des erwähnten Kükens 1 bis 2 mm ober dem zur Entnahme dienenden Loch beginnt und die schiefe Fläche sich vom Loch abwärts neigt. Durch diese Anordnung kann das etwa gebildete Kondensat nicht in die ableitende Öffnung fließen.

Die zum Messen des Gases bzw. des Dampfes dienende automatische Doppelbürette ist eine von uns konstruierte neuartige Bürette (Abb. 1 und 2). Diese besteht aus zwei gleichen, in 0,05 ml geteilten 12 ml fassenden Büretten (*a* und *b*) und Glasröhren mit einem Behälter. Zur Ausmessung von Mikromengen verwenden wir 3 ml fassende Mikrobüretten, die in 0,01 ml eingeteilt sind. Der Behälter ober der Röhre „*c*“ faßt dementsprechend 50 ml Sperrflüssigkeit. Unter der Einteilung ist an den Büretten je ein Hahn angebracht. Ca. 3 bis 4 cm unter den Hähnen laufen die beiden Büretten in V-Form zusammen und im Treffpunkt ist die zu dem Zweig *c* führende Glasröhre angeschmolzen. Ungefähr 3 cm unter dem Treffpunkt der drei Glasröhren ist abermals ein Hahn eingesetzt. Die Fortsetzung der Bürette unter dem Hahn ist kapillar und ca. 5 cm lang. Das Ende der Kapillare ist abgeschliffen. Der Zweig *c* trägt zwei Hähne. Einer ist in gleicher Höhe mit den Hähnen der Büretten *a* und *b*, der andere ist ca. 3 cm unter der Einschmelzstelle des schon erwähnten Anschlußrohres. Unter dem Hahn ist die Fortsetzung der Röhre in 3 cm Länge kapillar. Am oberen Ende der Röhre *c*, über die Büretten reichend, befindet sich ein ca. 150 ml fassendes Gefäß für die Sperrflüssigkeit.

Oberhalb der Einteilung der Büretten *a* und *b* ist die Röhre ein wenig erweitert, um das Überfließen bei unvorsichtigem Auffüllen mit Sperrflüssigkeit, die in der weiteren Röhre langsamer ansteigt, zu verhindern.

Bei Gasanalysen ist die Bürette in der beschriebenen Weise unmittelbar an den unteren Hahn des Gasbehälters angeschlossen, bei Dampfraumanalysen ist jedoch das Ableitungsrohr der Doppelbürette an das senkrechte Rohr des zylindrischen Gasbehälters „*d*“ angeschlossen (Abb. 2). Letzteres reicht bis an den Boden des Behälters. Die Maße des zylindrischen Behälters *d* sind mit denen des Behälters *A* gleich. Das an den oberen Rand des zylindrischen Behälters *d* angeschmolzene waagrechte Rohr hat die gleiche Weite wie das Ableitungsrohr des Behälters *A* und kann mit diesem mittels eines Gummischlauches Glas an Glas verbunden werden.

Der Zweck dieser Einrichtung ist folgender: In der zu Dampf-abmessungen dienenden Einrichtung wird in den meisten Fällen Quecksilber als Sperrflüssigkeit verwendet. Mit diesem ist demnach der Behälter *A* unserer Vorrichtung gefüllt. Die automatische Doppelbürette ist ebenfalls mit Quecksilber gefüllt, und zwar so, daß Quecksilber auch zum Boden des angeschlossenen zylindrischen Behälters *d* gelangt. Gleichzeitig wird der Behälter *d* mit Wasser gefüllt und mit dem Behälter *A* verbunden. Läßt man nun aus der Bürette Quecksilber in den Behälter *d* fließen, so dringt aus diesem ein gleiches Volumen Wasser in den Behälter *A*, aus dem wieder ein gleiches Volumen Quecksilber in die Röhre *B* gelangt. Gleichzeitig kann man den in der Bürette abgemessenen, bei der Temperatur des Thermostaten gesättigten Dampf, mit am Manometerrohr *D* auf 0,01 bis 0,2 mm Hg genau kontrollierter Druckdifferenz in das Ableitungsrohr *F* bringen und von hier mit entsprechend gereinigtem Luftstrom in die Reaktorröhre weiterleiten.

Die Frage des Hilfgases ist auch noch zu besprechen. Als sauerstoff-freies Hilfgas verwenden wir Wasserstoff und Stickstoff. Die Sauerstoffspuren entfernen wir aus beiden Gasen mittels MnO. Diesbezüglich verweisen wir auf unsere früheren Mitteilungen³, die wir auch in dieser Zeitschrift in deutscher Sprache zu veröffentlichen beabsichtigen. Zu den Dampfraumanalysen benützten wir bisher von oxydierbaren Stoffen freie Luft als Hilfgas. Zu diesem Zweck verwendeten wir den in der

Abb. 3 bzw. 4 abgebildeten einfachen Apparat, bestehend aus einer 15-l-Flasche mit eingeschliffenem, bis an den Boden reichendem Trichterrohr und Hahn. In die Flasche gießt man ca. $\frac{1}{2}$ l, bzw. so viel Chromschwefelsäure, daß das Ende des Trichterrohres in die Säure taucht. Die Luft in der Flasche schüttelten wir mit dem oxydierenden Säuregemisch und benützten die so gereinigte Luft als Hilfgas. In manchen Fällen erwärmten wir das aus dem Gasometer entnommene Gas durch Anlegen einer elektrisch geheizten Widerstandsschleife auf das gläserne Ableitungsrohr. Es ist noch zu bemerken, daß nach dem Gasometer ein Quecksilberrückschlagventil geringen Widerstandes, ein Glashahn und ein Manometer folgt. Erstere dienen dazu, um während und nach der Probenahme das eventuelle Einströmen des zu messenden Gases in den Gasometer zu verhüten, letzteres ermöglicht die laufende Kontrolle des Saugdruckes vom Nadelventil oder des Überdruckes vom Gasometer her.

Abmessen des Gases oder Dampfes. Soll eine Gasprobe aus dem beschriebenen Behälter entnommen werden, so kann das mit Hilfe des in Abb. 1 gezeigten Gerätes in folgender Weise geschehen. Die Hähne 2 und 4 werden geöffnet (alle anderen sind abgesperrt) und aus der Bürette *a* wird so viel Sperrflüssigkeit abgelassen, daß nach Sperren des Hahnes 4 und Öffnen von 5 die Menisken in der Bürette *a* und im Gasbehälter gleich hoch stehen. Sollte in der Bürette *a* das Niveau der Sperrflüssigkeit höher stehen, so wird Hahn 5 gesperrt und über 4 so viel Sperrflüssigkeit abgelassen, bis bei offenen Hähnen 2 und 5 die Menisken der Bürette und des Behälters gleich sind. Wenn in der Bürette *a* die Sperrflüssigkeit tiefer steht als im Gasbehälter, so werden die Hähne 2 und 3 geöffnet, Sperrflüssigkeit wird aus der Bürette *b* in die Bürette *a* abgelassen, dann Hahn 3 geschlossen und die Hähne 2 und 5 wieder geöffnet, um zu kontrollieren, ob die Menisken gleich hoch stehen. Ist dies der Fall, so ist der Gasdruck im Gasbehälter mit dem Druck der Außenluft gleich.

Nach dieser Einstellung werden sämtliche Hähne geschlossen; dann wird Hahn 1 geöffnet und durch die Hähne 2 und 3 werden die Büretten *a* und *b* nacheinander mit Sperrflüssigkeit bis zur Nullmarke gefüllt. Nachdem der Hahn 1 abgesperrt wurde, werden 2 und 5 ein wenig geöffnet (damit die Sperrflüssigkeit langsam einströmt); dadurch wird der Gasdruck im Behälter höher. Nach Öffnen des Hahnes am Gasbehälter in entsprechender Richtung lassen wir Gas ausströmen. Die Reihenfolge beim Absperrn der Hähne ist folgende: erst wird der obere Hahn des Gasbehälters geschlossen, um das Eindringen von Außengasen zu verhindern, dann wird der Hahn 5 der Bürette geschlossen. Die verdrängte Gasprobe wird mit Hilfe eines indifferenten Gases in den Reaktionsraum gespült. Nach beendeter Reaktion wird die Menge des abgemessenen Gases festgestellt. Zu diesem Zweck wird bei geöffneten Hähnen 2 und 5 der Meniskus des Quecksilbers auf den nächstliegenden ganzzahligen Teilstrich eingestellt und der Hahn 5 gesperrt. Durch Öffnen des Hahnes 4 läßt man die Sperrflüssigkeit bis zum untersten Teilstrich der Bürette abfließen. Das Volumen der abgelassenen Sperrflüssigkeit wird notiert. Nun wird Hahn 4 abgesperrt und 5 geöffnet, und das unter Überdruck stehende Gas kann expandieren. In der Bürette *a* wird das Niveau der Sperrflüssigkeit auf eine bestimmte Höhe ansteigen. Jetzt wird Hahn 5 geschlossen und aus der Bürette *b* über Hahn 3 in die Bürette *a* so viel Sperrflüssigkeit abgelassen, daß nach Schließen von 3 und Öffnen von 5 das Niveau der Sperrflüssigkeit in Bürette und Behälter gleich ist. Nöteigensfalls wird dieses Verfahren wiederholt*.

* Bei diesem Verfahren ist das Absperrn des Hahnes 5 darum notwendig, weil sonst infolge der Unterschiede in den Durchmessern von Bürette und Gasbehälter die Sperrflüssigkeit aus der Bürette *b* in größerem Maße in den Gasbehälter als in die Bürette *a* fließen würde. Die Folge davon wäre, daß nach Absperrn des Hahnes 3 das ausgeglichene Niveau der Sperrflüssigkeit sich in der Bürette und im Gasbehälter verschieben würde, weil Sperrflüssigkeit aus dem Gasbehälter zur Bürette *a* fließen würde.

Käme zu viel Sperrflüssigkeit in die Bürette *a*, so wird über Hahn 4 ein bekanntes Volum der Sperrflüssigkeit abgelassen und die genaue Einstellung des Meniskus der Bürette *b* beginnt von neuem. Wenn die

Menisken gleich hoch stehen, wird die Anzahl Milliliter der aus den beiden Büretten abgelassenen Sperrflüssigkeit bestimmt; von der Summe beider wird die Anzahl Milliliter Sperrflüssigkeit abgezogen, die durch den Hahn 4 abfloß. Diese Differenz ergibt das Volumen des abgemessenen Gases bei der Temperatur des Thermostaten und dem Barometerstand entsprechenden Druck. Das Einstellen auf Niveaugleichheit in Bürette *a* und Gasbehälter erleichtert ein auf den Gasbehälter montierter Zeiger, der aus Kupferblech so hergestellt wird, daß der vorstehende Zeiger genau rechtwinkelig zum Kupferring am Kühlmantel des Gasbehälters steht.

Wesentlich einfacher und genauer wird das Abmessen der Probe, wenn an den Gasbehälter der Abb. 1 das gestrichelt gezeichnete Manometer angeschmolzen wird. In diesem Fall wird der auf den Mantel des Gasbehälters montierte Zeiger überflüssig. Der Gasbehälter und auch das angeschmolzene Manometer werden mit der Sperrflüssigkeit (Quecksilber) gefüllt, der Hahn des Manometers geschlossen und der Gasbehälter in üblicher Weise mit dem Versuchsgas gefüllt. Durch entsprechendes Heben oder Senken des Sperrflüssigkeitsniveaus* läßt man im Manometer

* Als Quecksilberbehälter beim Füllen des Gasbehälters mit dem zu untersuchenden Gase dient der Behälter der Doppelbürette.

so viel Sperrflüssigkeit, daß die Differenz zwischen Innen- und Außendruck bequem kontrollierbar ist. Dies erleichtert ein am Manometer leicht verschiebbarer Metallzeiger, der auf die gleichen Niveaus der Flüssigkeit in den beiden Manometerschenkeln eingestellt werden kann.

Der gefüllte Gasbehälter wird in der aus Abb. 1 ersichtlichen Weise mit der automatischen Doppelbürette verbunden, wobei zu beachten ist, daß die ausnützbare Höhe des Gasbehälters zwischen den Teilstrichen 5 und 10 ml der Büretten stehe. Die Sperrflüssigkeit im Gasbehälter bzw. deren Niveau wird so eingestellt, daß der Druck des Gases im Behälter mit dem Außendruck gleich ist. Die Bürette *a* wird bis zur Nullmarke gefüllt, die Bürette *b* bis zum untersten Teilstrich (12 ml) entleert. Nun wird bei konstantem bzw. bei etwas größerem Druck als der Außendruck Sperrflüssigkeit aus der Bürette *a* in den Gasbehälter geleitet und aus diesem Gas in den Analysenapparat übergeführt. Sollte der Gasdruck im Gasbehälter größer sein als der Luftdruck, so wird der Druck durch Ablassen von Sperrflüssigkeit aus dem Gasbehälter in die Bürette *b* eingestellt, das heißt, es wird sorgfältig darauf geachtet, daß das Niveau der Flüssigkeit in beiden Schenkeln des Manometers gleich hoch steht. Zieht man vom Volumen der aus der Bürette *a* abgelassenen Flüssigkeit das Volumen der aus dem Gasbehälter in die Bürette *b* gedrückten Sperrflüssigkeit ab, so erhält man das Volumen des aus dem Gasbehälter verdrängten Gases bei dessen Temperatur und beobachtetem Barometerstand.

Das Verfahren wird nötigenfalls wiederholt.

Noch einfacher wird die Gasentnahme, wenn diese unter Zwischenschaltung des Nadelventils mittels einer Wasserstrahlpumpe oder einer anderen entsprechenden Vorrichtung geregelt wird. In diesem Fall kann die Gas- oder Dampfentnahme auch mit einer Bürette *a* gesichert werden. Als erstes wird mit Hilfe des Bürettensystems der Druck des im Behälter befindlichen Gases (Dampfes) mit dem Luftdruck gleichgestellt, dann wird nach begonnenem, mit dem Nadelventil oder in anderer Weise regeltem Sagen aus der aufgefüllten Bürette *a* Sperrflüssigkeit in den Gas- bzw. Dampfbehälter geleitet und man verdrängt daraus bei sorgfältiger Überwachung des Manometers die zu analysierende, an der Bürette abgelesene Gas- bzw. Dampfmenge in die Reaktoröhre oder irgend eine geeignete Analysenvorrichtung.

Die Entnahme von Analysenproben aus dem Dampfraum von im Gleichgewicht befindlichen heterogenen Systemen (Abb. 2) geschieht nach demselben Verfahren, das bei der Gasentnahme aus dem Gasbehälter mit Manometer beschrieben wurde (Abb. 1).

Neue titrimetrische Gasanalysenverfahren.

Auf der Grundlage der beschriebenen Meßverfahren haben wir bisher zur Bestimmung von Sauerstoff⁴, Distickstoffoxyd⁵ sowie Distickstofftrioxyd und Stickstoffmonoxyd⁶ jodometrische Analysenverfahren aus-

gearbeitet, die wir auch in deutscher Sprache zu publizieren beabsichtigen.

Messung der Dampftension von Äthyl- bzw. Methylalkohol auf mikrochemischem Wege.

In unserem, auf Grund der erörterten Prinzipien konstruierten Apparat bestimmten wir auf chemischem Wege bei verschiedenen Temperaturen die Konzentration des gesättigten Dampfes von absolutem Äthyl- bzw. Methylalkohol. Aus den Ergebnissen konstruierten wir die Tensionskurven der erwähnten Alkohole. Hiemit kontrollierten wir sozusagen die Richtigkeit unseres Verfahrens.

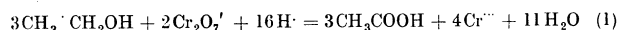
Mit dieser bewährten Methode lag der Gedanke nahe, die Menge des Äthyl- bzw. Methylalkohols im Dampfraum der heterogenen Systeme Äthylalkohol-Wasser und Methylalkohol-Wasser zu bestimmen, um daraus deren Teildrucke zu berechnen, um so mehr, da wir uns mit dem Messen dieser Alkohole in der Dampfphase schon früher befaßten⁷. Diesbezügliche Arbeiten sind im Gange. Die Meßergebnisse der reinen Alkohole geben wir in zwei Tabellen (1 und 2) und in einem Diagramm an (Abb. 5). Wir bemerken noch, daß nicht nur aus dem Dampfraum unseres Apparates Proben entnommen werden können, sondern auch aus der flüssigen Phase, wodurch es möglich ist, auch deren Zusammensetzung zu bestimmen. Zu diesem Zweck wird in den Schliff des Manometers des Dampfraumapparates eine senkrecht nach abwärts gebogene Kapillare (10 cm lang!) angebracht*. Man kann auf

* Während der Dampfentnahme wird an die Kapillare ein Chlorcalcium-Trockenrohr befestigt.

diese Weise bei geschlossenem Hahn *E* mit der aus der Bürette in den Apparat gedrückten Sperrflüssigkeit beliebige Mengen des Versuchsmaterials durch das Manometer entnehmen.

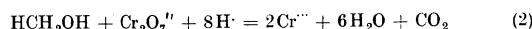
Beschreibung des Untersuchungsverfahrens.

Leitet man in einem geeigneten Apparat (siehe Abb. 2) durch eine aus 73%iger Schwefelsäure (4 Vol. Wasser + 6 Vol. H₂SO₄) bereitete 0,1-n Kaliumbichromatlösung Äthylalkoholdämpfe, so wird der Äthylalkohol nach der Gleichung



zu Essigsäure oxydiert⁷.

Ebenso wird Methylalkoholdampf nach der Gleichung



zu Kohlendioxyd oxydiert.

Bei unseren Versuchen benützten wir dieses Prinzip und bestimmten den Überschuß der Kaliumbichromatlösung jodometrisch.

Reagenzien.

0,1-n K₂Cr₂O₇-Lösung in 73%iger Schwefelsäure⁷.

Kaliumhydrogencarbonat, fest, große Kristalle.

Kaliumjodid, fest,

0,1-n Na₂S₂O₃-Lösung,

1%ige Kartoffelstärkelösung mit 0,1% Salycilsäure konserviert.

Der Dampfraumapparat wurde zwecks vollständigen Austrocknens auf 50° erwärmt und durch ihn über das Manometer *D* etwa 5 Stunden lang mit konz. Schwefelsäure getrocknete Luft gesaugt. Als Sperrflüssigkeit verwendeten wir Quecksilber; auch der obere Ableitungshahn war mit einem Quecksilberverschluß versehen. Auf das Ende der Manometer-röhre war ein Chlorcalcium-Trockenrohr angesetzt. Unser Apparat tauchte in den in Abb. 4 gezeigten Thermostaten, in dem das Wasser so hoch stand, daß der oben angebrachte schiefe Abschluß unseres hohlen Hahnes noch mindestens 1 bis 2 cm unter Wasser blieb. Das Verschließen der kelchartigen Erweiterung des Hahngehäuses *E* mit Quecksilber erwies sich als überflüssig, womit auch das Untertauchen des ganzen Gerätes vermieden werden konnte.

Nach fünfstündigem Trocknen stellen wir den Apparat auf die gewünschte Temperatur ein. Nachdem dies erfolgt ist, gießen wir in den

Trog des Apparateiles *C* den zu untersuchenden Äthyl- bzw. Methylalkohol (ca. 30 ml) und warten einige Stunden, bis sich das Gleichgewicht des Systems eingestellt hat. Vor Beginn des Versuches füllen wir in die Reaktorröhre *H* 10,00 ml 0,1-n $K_2Cr_2O_7$ -Lösung in der Weise, daß deren Hauptmenge, etwa 8 ml, in den erweiterten Raum des pfeifenartig gebogenen Rohres, der Rest aber ober das Glasfilter gelangt, das wir bis zu etwa 2 cm Höhe mit Glasperlen überdecken. Die Reaktorröhre wird an den Schliff der Kapillare der Ableitungsrohre *F* gesetzt. Die Pfeife wird mit dem Nadelventil bzw. über dieses mit der Wasserstrahlpumpe verbunden, letztere geöffnet und der Gasstrom mit dem Nadelventil so reguliert, daß man die Gasblasen in der Pfeife noch bequem zählen kann. Gleichzeitig wird der Gasometer unter 1 bis 2 mm Hg Überdruck gestellt. Der Druck wird an dem dem Gasometer nachgeschalteten Manometer kontrolliert. Unter ständiger Überwachung des Druckes führen wir in der beschriebenen Weise so viel Dampf aus dem Dampfraum in die Pfeife, daß von den 10,00 ml $K_2Cr_2O_7$ -Lösung wenigstens ein Drittel unverbraucht bleibt. Nur dieses Verhältnis sichert den schnellen Verlauf der Oxydation*. Das in die Ableitungsrohre *F* geführte Gas wird in die

* Reagiert Alkohol in der Gasphase und wird der Dampf mit Luft verdünnt durch das Oxydationsmittel geleitet, so verflüchtigt sich das Reaktionsprodukt: die Essigsäure. Dies ist vom Standpunkte der Reaktion vorteilhaft, da so eine weitere Oxydation der Essigsäure vermieden wird. Über die Untersuchung dieser Frage werden *E. Pungor* und *J. Trompler* an anderer Stelle berichten.

Reaktorröhre *H* gespült. Zum Spülen genügen nach unseren Beobachtungen 200 bis 250 ml von reduzierenden Stoffen freie Luft.

Nach beendeter Reaktion wird die Reaktorröhre gewechselt, und eine neue Bestimmung kann beginnen. Eine Probenahme dauert etwa 20 Minuten.

Der Inhalt der Reaktorröhre wird mit Hilfe eines Gummiballons in einen 500-ml-Erlenmeyerkolben mit Glasstopfen übergeführt, in die auf 100 bis 150 ml verdünnte Lösung 1 bis 2 g $KHCO_3$ (große Kristalle) gebracht, der befeuchtete Stopfen lose aufgesetzt und der Kolben bis zum Aufhören der Gasentwicklung beiseite gestellt. Nach Zugabe von etwa 0,5 g KJ wartet man 5 Minuten und titriert das ausgeschiedene Jod. Als Indikator wird Stärkelösung verwendet.

1 ml 0,1-n $K_2Cr_2O_7$ -Lösung entspricht 1,1517 mg ($1^\circ g = 06134$) Äthylalkohol bzw. 0,5340 mg ($1^\circ g = 72754$) Methylalkohol.

Die Tensionswerte berechnen wir aus den Meßergebnissen mit Hilfe folgender Gleichung:

$$p_t = \frac{760^2 \cdot 22,416 \cdot n \cdot F \cdot f \cdot T}{273,16 \cdot 10\,000 \cdot v \cdot p_{bo}}$$

Es bedeuten: p_t = Partialdruck des bei t° gesättigten Dampfes.

n = reziproke Wertigkeit des untersuchten Dampfes bei der Bichromatreaktion.

F = ml verbrauchte 0,1-n $K_2Cr_2O_7$ -Lösung.

f = Faktor der 0,1-n $Na_2S_2O_3$ -Lösung.

T = Temperatur in $^\circ K$.

v = Volumen des untersuchten Dampfes bei gegebener Temperatur und herrschendem Luftdruck.

p_{bo} = Barometerstand in mm Hg.

Die Ergebnisse der mit Äthylalkohol durchgeführten Versuche sind in Tabelle 1 und graphisch in Abb. 5 dargestellt; die Ergebnisse der Versuche mit Methylalkohol sind aus der Tabelle 2 und der Abb. 5 ersichtlich. In beiden Versuchsreihen benützten wir absoluten Äthyl- ($d_{20} = 0,78943$) bzw. Methylalkohol ($d_{20} = 0,79163$). Zur Entfernung der letzten Wasserspuren erwies sich die Methode *L. W. Winklers*⁸ am geeignetsten.

Unsere Versuche beweisen überzeugend, daß man Partialdrucke mit entsprechenden chemischen Reaktionen sehr genau (mit einem Fehler von $\pm 0,5\%$) bestimmen kann. Unsere Tensionsmessungen zeigen bei absolutem Äthylalkohol um etwa 0,5% höhere Werte als die in der

Tabelle 1. Tensionsmessung von absol. Äthanol ($d_{20} = 0,78943$).

Temperatur °C	Einwaage von Luft- Dampf- Gemischen ml N. Z.	Verbraucht 0,1-n K ₂ Cr ₂ O ₇ - Lösung ml	Dampf- druck mm Hg	Mittelwert mm Hg	Abweichung vom Mittelwert △ %	Dampfdruck (Literatur*) mm Hg	Abweichung der Mittelwerte △ %
25,00	8,88 ₃	1,25 ₁	60,0 ₀	59,7 ₇	+0,3 ₈	59,1 ₆	+1,0 ₆
	9,46 ₈	1,31 ₁	58,9 ₆		-1,3 ₅		
	10,32 ₆	1,42 ₉	60,3 ₄		+0,9 ₅		
30,00	8,83 ₁	1,66 ₂	80,1 ₅	79,7 ₉	+0,4 ₅	78,0 ₇	+2,2 ₀
	7,48 ₂	1,39 ₅	79,4 ₁		-0,4 ₈		
	6,37 ₈	1,19 ₂	79,7 ₉		0,0		
	8,42 ₆	1,54 ₃	79,8 ₀		+0,0 ₁		
35,00	4,95 ₇	1,19 ₇	102,8 ₆	102,5 ₅	+0,3 ₀	102,4 ₅	+0,1 ₀
	7,92 ₄	1,89 ₆	102,1 ₀		-0,4 ₄		
	5,09 ₆	1,22 ₂	102,0 ₇		-0,4 ₇		
	9,40 ₆	2,27 ₆	103,2 ₂		+0,6 ₅		
39,98	8,03 ₄	2,53 ₂	134,5 ₇	134,0 ₅	+0,3 ₁	133,5 ₁	+0,4 ₀
	6,20 ₀	1,95 ₃	134,2 ₁		+0,1 ₂		
	7,07 ₇	2,22 ₅	133,9 ₅		-0,0 ₇		
	6,87 ₈	2,15 ₆	133,5 ₅		-0,3 ₇		
	8,78 ₃	2,76 ₅	134,4 ₂		+0,2 ₈		
	19,20 ₀	6,02 ₆	133,6 ₄		-0,3 ₀		
44,75	5,63 ₈	2,27 ₅	171,8 ₈	171,2 ₇	+0,3 ₅	170,7 ₆	+0,3 ₃
	6,57 ₄	2,66 ₁	172,3 ₈		+0,6 ₅		
	7,51 ₂	3,02 ₇	171,6 ₄		+0,2 ₂		
	5,09 ₂	2,01 ₈	168,7 ₈		-1,4 ₅		
	6,82 ₆	2,73 ₀	170,3 ₃		-0,5 ₅		
	15,13 ₅	6,13 ₂	172,5 ₉		+0,7 ₇		

* Die Zahlenwerte entnehmen wir den aus den Mittelwerten der Literaturangaben^{10, 12} dargestellten $\log p - 1/T$ -Diagrammen.

Tabelle 2. Tensionsmessung des absol. CH₃OH ($d_{20} = 0,79163$).

Temperatur °C	Einwaage von Luft- Dampf- Gemischen ml N. Z.	Verbraucht 0,1-n K ₂ Cr ₂ O ₇ - Lösung ml	Dampf- druck mm Hg	Mittelwert mm Hg	Abweichung vom Mittelwert △ %	Dampfdruck (Literatur*) mm Hg	Abweichung der Mittelwerte △ %
20,30	15,78 ₄	5,67 ₃	102,0 ₆	101,6 ₇	+0,3 ₈	96,4 ₉ 97,7 ₃	+5,3 ₇ +4,0 ₄
	13,38 ₈	4,80 ₆	101,8 ₁		+0,1 ₄		
	12,21 ₂	4,36 ₁	101,4 ₀		-0,2 ₇		
	14,68 ₂	5,24 ₄	101,4 ₂		-0,2 ₅		
30,20	6,21 ₄	3,66 ₁	167,4 ₀	168,3 ₃	-0,5 ₅	161,6 ₂ 162,3 ₇	+4,0 ₄ +3,6 ₉
	7,88 ₉	4,68 ₈	168,8 ₁		+0,2 ₈		
	4,48 ₅	2,64 ₉	167,8 ₆		-0,2 ₈		
	8,92 ₆	5,31 ₈	169,2 ₄		+0,5 ₄		
34,90	6,13 ₉	4,54 ₃	210,3 ₇	209,6 ₂	+0,3 ₅	203,8 ₅ 204,2 ₀	+2,8 ₃ +2,6 ₆
	6,75 ₇	4,99 ₈	210,0 ₁		+0,1 ₈		
	6,45 ₇	4,77 ₁	209,7 ₈		+0,0 ₅		
	5,24 ₇	3,86 ₂	209,0 ₆		-0,2 ₉		
	5,95 ₄	4,38 ₁	208,9 ₂		-0,3 ₃		
44,10	4,68 ₇	5,25 ₅	318,3 ₁	319,0 ₁	-0,2 ₂	315,5 ₅ 315,0 ₆	+1,1 ₁ +1,2 ₇
	2,74 ₅	3,06 ₂	316,7 ₈		-0,7 ₀		
	5,30 ₁	6,01 ₀	321,9 ₅		+0,9 ₂		

* Die Zahlenwerte entnehmen wir den aus den Literaturangaben^{10, 12} dargestellten $\log p - 1/T$ -Diagrammen.

Literatur angegebenen^{9, 10}. Die Partialdrucke des Methylalkohols sind höher als die Literaturangaben. Bei höheren Temperaturen werden diese Abweichungen immer geringer und werden schließlich mit den Werten der Literatur gleich^{9, 10}. Betrachtet man diese Ergebnisse, so liegt die Annahme sehr nahe, daß sich ein Teil der Methylalkoholmoleküle in der Dampfphase in assoziiertem Zustande befindet und erst bei höherer Temperatur die Assoziation auf ein geringes Maß sinkt. Eben auf Grund des Verhaltens von Methylalkohol kann man mit großer Wahr- scheinlich-

keit annehmen, daß die beim Äthylalkohol beobachteten ständigen Mehrwerte ebenfalls mit einer geringeren Assoziation erklärt werden können.

Jedenfalls scheint das Verfahren zur Bestimmung der Gültigkeitsgrenzen des Raoult- bzw. Daltonschen Gesetzes geeignet. Mit dieser Frage befaßte sich auf Grund der Beobachtungen *L. W. Winklers* sein Sohn *L. T. Winkler*¹¹, indem er den Teildruck des Wasserdampfes in Gegenwart verschiedener Gase untersuchte. Praktischen Wert kann das Verfahren bei der Bestimmung der Daten zur Berechnung der sogenannten Tellerzahl erlangen.

Zusammenfassung.

Nach einer kritischen Besprechung der Grundprinzipien der allgemein gebräuchlichen Gasanalyse beschreiben Verfasser ein neues Gasmeßgerät, womit nicht nur aus Gasen, sondern auch aus dem Dampfraum heterogener Systeme Anteile zur Analyse mit analytischer Genauigkeit entnommen werden können. Die einzelnen Bestandteile der Gase bzw. Dämpfe bestimmen Verfasser aus separaten Gas- bzw. Dampfanteilen. Die Brauchbarkeit des Verfahrens beweisen Verfasser mit den durch chemische Analyse bestimmten Tensionskurven von absolutem Äthyl- bzw. Methylalkohol.

Summary.

The paper opens with a critical discussion of the basic principles of gas analysis as employed in general. A new measuring device is then described which permits the taking of portions with analytical exactness from gases and also from the vapor space of heterogeneous systems. The individual constituents of the gases or vapors are determined from separate portions of the gases or vapors. The usefulness of the procedure was demonstrated by means of the tension curves of absolute ethyl and methyl alcohol determined by chemical analysis.

Literatur.

- ¹ *L. W. Winkler*, Ausgewählte Untersuchungsverfahren für das chemische Laboratorium. Stuttgart: F. Enke. 1931. S. 25.
- ² *F. Bayer*, Gasanalyse, 2. Aufl. Stuttgart: F. Enke. 1941. S. 244.
- ³ *E. Schulek* und *E. Pungor*, Magyar Kémiai Folyóirat **56**, 213 (1950).
- ⁴ *E. Schulek* und *E. Pungor*, Magyar Kémiai Folyóirat **56**, 250 (1950).
- ⁵ *E. Schulek* und *E. Pungor*, Magyar Kémiai Folyóirat **56**, 396 (1950).
- ⁶ *E. Schulek* und *E. Pungor*, Magyar Kémiai Folyóirat **56**, 397 (1950).
- ⁷ *E. Schulek* und *P. Rózsa*, Z. analyt. Chem. **117**, 400 (1939). *E. Schulek* und *E. Szeghő*, Z. analyt. Chem. **123**, 270 (1941).
- ⁸ *L. W. Winkler*, Ber. dtsh. chem. Ges. **38**, 3612 (1905).
- ⁹ *E. F. Fiock*, *D. C. Ginnings* und *W. B. Holton*, Bur. Stand. J. Res. **6**, 895 (1931).
- ¹⁰ *J. D'Ans* und *E. Lax*, Taschenbuch für Chemiker und Physiker. Berlin: Springer-Verlag. 1943. S. 1396.
- ¹¹ *L. T. Winkler*, Mitteilungen der Ungarischen Landesanstalt für Meteorologie und Erdmagnetismus. Budapest, Neue Reihe No. 8. S. 34.
- ¹² *Landolt-Börnstein*, Physikalisch-chemische Tabellen. Ergbd. III. Berlin: J. Springer. 1936. S. 2454.

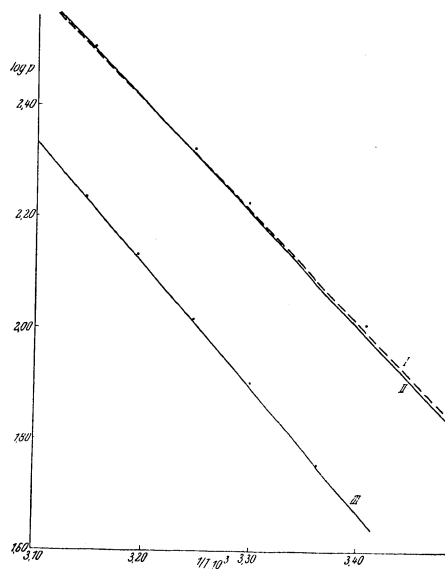


Abb. 5. I. Dampfdruckkurve des Methylalkohols. II. Dampfdruckkurve des Methylalkohols nach Angaben von E. F. Föck und Mitarb. III. Dampfdruckkurve des Äthylalkohols. Eigene Messergebnisse.

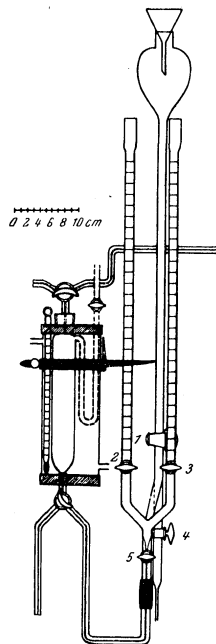


Abb. 1.

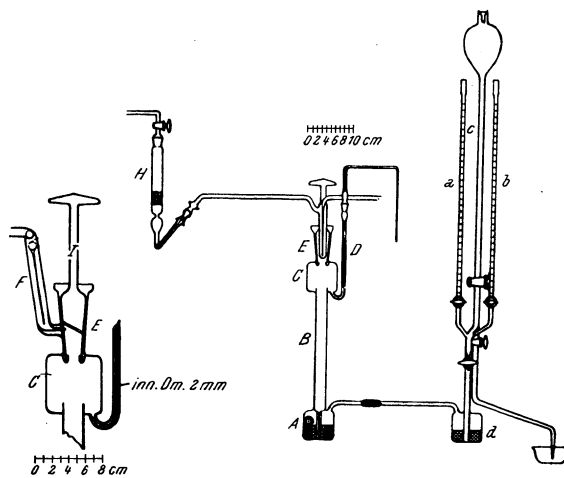


Abb. 2.

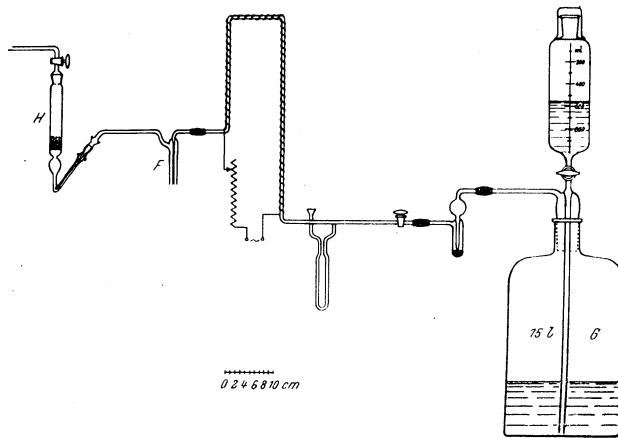


Abb. 3.

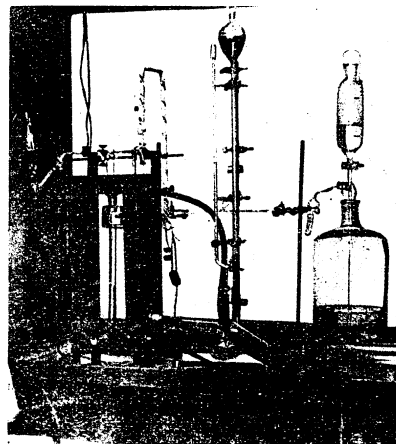


Abb. 4.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/39.

Zeilenanzahl: 481.

Aus dem Chemischen Untersuchungsamt der Stadt Stuttgart.

Eine spektrochemische Mikrobestimmung des Bleis in biologischem Material.

Von

K. Pfeilsticker.

Mit 5 Abbildungen.

(Eingelangt am 6. April 1955.)

Für die sichere Erkennung einer Bleivergiftung ist die Bleibestimmung im Blut und in anderem biologischem Material oft entscheidend. Da es sich dabei häufig um Gehalte unter $1 \mu\text{g/g}$ und um kleine Problemengenen handelt, bietet die Analyse einige Schwierigkeiten, die durch die Allgegenwart und durch die Flüchtigkeit des Bleis noch vermehrt werden. Die Bestimmung mit Dithizon, die auf *H. Fischer* zurückgeht, wurde von zahlreichen Analytikern auf die Untersuchung von biologischem Material angewandt und eingehend ausgearbeitet. Auch eine polarographische Methode führt zu guten Ergebnissen.

Für die spektrochemische Bestimmung des Bleis in biologischem Material wurden schon mehrere Verfahren angegeben. So hat das *Kettering-Laboratorium*¹ sich nicht mit der chemischen Bestimmung allein begnügt, sondern große Analysenreihen auch spektrographisch ausgeführt. *Danielsen*² verwendet den Kohlebogen in Verbindung mit einem großen Spektrographen. Dadurch gelingt es ihm, das Blei direkt in der Asche zu bestimmen. Nach *Brustier*, *Cornec* und *Triche*³ genügt es schon, das Blut einzutrocknen und zu verreiben, um das Blei im hochfrequenzgezündeten Abreibbogen bestimmen zu können. *Schrader*⁴ arbeitet mit der Glimmschichtmethode nach *Mannkopf*. In der Kathoden-Glimmschicht eines Kohlebogens werden die Linien des Bleis und vieler anderer Kationen besonders intensiv ausgestrahlt.

Steht nur ein Spektrograph mittlerer Dispersion zur Verfügung (z. B. der Q 24 von Zeiss), so ist eine Anreicherung des Bleis in der Asche notwendig. Ein besonders einfaches und sicheres Anreicherungsverfahren ist, wie wir gefunden haben, das Ausziehen der Hauptmineralstoffe (Na, K, Ca, Mg, P) mit einem „Reagens“⁵. Das Reagens besteht aus einer Kombination der organischen Schwermetallfällungsmittel Pyrrolidindithiocarbamat, 8-Oxychinolin und Anthranilsäure, die in Acetat-Phthalat-Puffer vom pH 4,8 gelöst sind. Es ist auch für die Anreicherung anderer Elemente als Blei anwendbar. Blei und andere Spurenelemente wandeln sich mit dem Reagens in schwerlösliche Verbindungen um und bleiben im Ungelösten zurück*. Obwohl sie nur in Spuren vorliegen, sind

* Das Blei wird während des ganzen Verfahrens nicht in Lösung gebracht, es liegt von der Trocknung ab immer in fester Form vor.

sie doch am Ort der Reaktion in verhältnismäßig großer Konzentration anwesend. Verluste sind deshalb weniger zu befürchten als bei Fällungen, auch wenn die Fällung in Gegenwart von Spurenfängern vorgenommen wird. Das von uns angewandte Verfahren schien uns für Reihenanalysen auch einfacher zu sein als die Extraktion des Bleis mit Dithizon. Außerdem hat es den Vorzug, daß die ganze Manipulation in einem Quarzschälchen vor sich gehen kann. Glasgefäße, die auch nach intensiver Reinigung immer wieder Blei abgeben können, sind vermieden.

Die Lichtstärke mittlerer Spektrographen ermöglicht es, mit kleinen Substanzmengen auszukommen. 2 ml Vollblut oder 4 ml Serum genügen für zwei Parallelbestimmungen des Normalbleigehaltes. Daraus ergibt

sich nebenbei auch eine Zeitersparnis, weil nur kleine Mengen Analysenmaterial verarbeitet werden müssen.

Die Homogenisierung des Vollbluts.

Ein Problem bildete aber die notwendige Homogenisierung von geronnenem Blut. Der Blutkuchen enthält ja viel mehr Blei als das Serum. Man kann zwar Zitratvenülen verwenden, die auch genügend bleifrei sind. Abgesehen davon, daß bei der Blutentnahme das Blut mit der Zitratlösung nicht immer ausreichend gemischt wird, muß das zugesetzte Flüssigkeitsvolumen bei wechselnden Blutmengen berücksichtigt werden. Wir sind deshalb von Zitratvenülen wieder abgekommen und haben verschiedene andere Wege versucht. So haben wir die gesamte Blutmenge in Kohle verwandelt und einen aliquoten Teil der Kohle nach sorgfältiger Zerreibung weiterverarbeitet. Dadurch verzichtet man aber auf die erwähnte Zeitersparnis. Später haben wir das Blut dadurch homogenisiert, daß wir auf etwa 5 ml Blut 0,1 ml mit Dithizon gereinigte 50%ige Kalilauge zusetzten. Der Blutkuchen läßt sich anschließend leicht zerteilen. Nach einiger Zeit wird das Blut jedoch zähflüssig und in manchen Fällen auch fest. Als der beste Weg erscheint uns heute die Zerteilung des Blutkuchens mit einem Rührer aus nichtrostendem Stahl in der Form eines Starmixrührers (Abb. 1). In 20 Sekunden ist der Blutkuchen gleichmäßig und fein zerteilt.

Die Extraktion der Hauptmineralstoffe.

Die Veraschung, die in Quarz- oder Platinschalen erfolgt (Abb. 2), wird durch einen Zusatz von Natriumcarbonat beschleunigt. Dabei ist eine Erhitzung über freier Flamme unbedingt zu vermeiden. Über freier Flamme wird die Temperatur trotz aller Vorsicht örtlich leicht so hoch, daß Bleiverluste auftreten*. Die der Veraschung vorausgehende Verkoh-

* Die Bleiverluste fallen besonders bei kleinen Bleimengen ins Gewicht. Mitunter wird überhaupt kein Blei mehr gefunden.

lung muß im Luftbad vorgenommen werden, die Veraschung selbst erfolgt im Muffelofen. Wenn die Veraschungstemperatur 500° nicht übersteigt, sind keine Bleiverluste zu befürchten, namentlich nicht, solange noch Kohle vorhanden ist und bei Anwesenheit von Phosphorsäure.

Auch bei der Extraktion der Asche mit dem erwähnten Reagens entstehen keine Bleiverluste, die zu beachten wären. Pohl⁶ berichtet zwar von Blei-, Chrom- und Manganverlusten, wenn diese Elemente mit Pyrrolidindithiocarbamat bei pH 4 gefällt werden. In besonderen Versuchen haben wir uns aber davon überzeugt, daß bei unserer Art der Anreicherung durch Extraktion der Hauptmineralstoffe bei pH 4,8 weniger als 1% des Bleis in Lösung gehen. Dazu wurden die vereinigten Filtrate von 16 Einzelanalysen der gleichen Blutprobe ihrerseits wieder auf Blei analysiert. Es ergab sich weniger als der 6. Teil des in einer Probe vorhandenen Gehalts, auf das Filtrat einer Einzelanalyse umgerechnet also ein Verlust von insgesamt etwa 1%. Bei der Frage der Löslichkeit des Bleis und anderer Spurenelemente ist noch zu berücksichtigen, daß das bei der Extraktion schon anwesende Bezugselement in kleinsten Spuren ebenfalls extrahiert wird. Sind die extrahierten Anteile des Analysen- und des Bezugselements gleich groß, so entsteht überhaupt kein Fehler.

Damit auch Calciumsulfat gelöst wird, enthält das Reagens eine größere Menge Ammoniumacetat, das gleichzeitig als pH-Puffer wirkt. Als zweite Puffersubstanz mit einem etwas anderen pH-Bereich ist Phthalat anwesend. Bei der Herstellung erzeugt man im Reagens einen Niederschlag, um die letzten Schwermetallverunreinigungen zu entfernen. Nach der Einwirkung auf die Kohle oder Asche wurde das Reagens ursprünglich mit Platinfiterstäbchen nach Emich abgesaugt. Wir hatten die Absicht, Papierfilter mit ihren kaum völlig zu beseitigenden Verunreinigungen zu vermeiden. Während sich aber Kohle gut absaugen läßt, verstopft Asche das Filterstäbchen rasch. Durch Ausglühen und Durchsaugen von Salzsäure wird die ursprüngliche Porosität zwar wieder hergestellt, die Filterstäbchen leiden aber unter dieser Behandlung und werden nach einiger Zeit reparaturbedürftig. Wir stellen die Filterstäbchen deshalb jetzt aus

Plexiglas her. Sie haben eine Siebplatte mit etwa 150 Bohrungen von 0,3 mm Durchmesser (Abb. 3). Die 9-mm-Papierfilterchen werden mit einem besonderen Stanzer aus nichtrostendem Stahl (Abb. 3) ausgestanzt und mit spektralreiner Salzsäure gereinigt. Um die Menge der zurückbleibenden Verunreinigungen noch weiter herabzusetzen, kann der Durchmesser auf 5 mm verkleinert werden. Die Filterchen haben einen kleinen Fortsatz, an dem sie nach Aufhebung des Vakuums leicht vom Filterstäbchen abgehoben werden können. In der Saugleitung befindet sich eine mit dem Finger verschließbare Öffnung zum raschen Wechsel des Vakuums und des normalen Luftdrucks.

Das Bezugselement.

Als Bezugselement wird Indium zugesetzt, das bei einer ähnlichen Temperatur verdampft wie Blei^{6, 7}. Wesentlich ist, daß das Bezugselement in der Probe homogen verteilt wird. Bei festen Proben geht man so vor, daß man sie zunächst in Kohle verwandelt. Zur Kohle wird die Bezugslösung und außerdem die nachher zu besprechende „Zusatzlösung“ zugegeben. Hierauf trocknet und verkohlt man von neuem. Die organische Substanz der Zusatzlösung verhindert, daß sich die Bezugselemente an der Wand der Schale festsetzen. Sind in der ursprünglichen Probe keine oder nicht genügend organische Substanzen vorhanden, so wird ebenfalls Zusatzlösung zugegeben, z. B. zu Urin oder zu enteweißtem Serum.

Die Haft- oder Zusatzlösung.

Um die angereicherte Asche auf den ebenen Hilfselektroden festzuhalten, verwenden wir eine Haft- oder Zusatzlösung⁸. Sie enthält ein leicht herzustellendes, braunes Kondensationsprodukt aus Glukose, Glykokoll und Harnstoff und bildet nach dem Eintrocknen auf der Elektrode einen festhaftenden lackartigen Überzug, der die Asche einschließt und mit der Elektrode verbindet (Abb. 4 und 5). In vielen Fällen wie hier bei der Bleibestimmung enthält die Haftlösung auch spektrochemische Puffer, und zwar kleine Mengen der Hauptmineralstoffe, wenn es sich um die Analyse von biologischem Material handelt. In der angereicherten Asche bleiben kleine, wechselnde Mengen dieser Mineralstoffe zurück, die von den zugesetzten Puffersubstanzen ausgeglichen werden. Die mit Puffern versetzte Haftlösung nennen wir Elektrodenlösung. Das Überführen der Asche auf die Elektrode geschieht am besten mit schräg zugeschnittenen Federkielen. Sie sind dünner als kleine Hornlöffel und können zur Reinigung jederzeit nachgeschnitten werden.

Die Vermeidung von Fremdblei.

Es ist nicht überflüssig, besonders darauf hinzuweisen, daß die Einschleppung von Fremdblei peinlich vermieden werden muß. Blut darf unter keinen Umständen mit einer Rekordspritze entnommen werden. Tabelle 1 gibt einen Versuch wieder, den wir gemeinsam mit dem Landes-

Tabelle 1. Einfluß der Blutentnahme mit Venüle, Glasspritze und Rekordspritze. Spritzen gemeinsam sterilisiert. Bleigehalt des Wassers vor und nach dem Auskochen der Instrumente.

Blutprobe	Entnommen mit		
	Venüle	Glasspritze	Rekordspritze
	µg Pb in 100 ml		
1	50	74	176
2	45	66	77
3	83	102	220
4	119	138	1000
5	37	34	94
6	40	58	127

Destilliertes Wasser: 30 µg/l Pb.

Kochwasser: 210 µg/l Pb.

gewerbearzt von Baden-Württemberg, Herrn Dr. Hoschek, ausgeführt haben. Die Entnahme mit einer Rekordspritze verfälscht die Ergebnisse vollkommen. Aber auch Glasspritzen, die zusammen mit Rekordspritzen

ausgekocht wurden, verursachen schon zu hohe Bleiwerte*. Das Koch-

* Darauf hat auch Wa. Gerlach hingewiesen: Zeiss-Nachrichten, 3. Folge, Juli 1939, Methoden und Anwendungen der Emissionsspektalanalyse in der medizinischen Praxis und Forschung. Die Bleiaufnahme wird dort auf eine Bleidichtung der Rekordspritze zurückgeführt.

wasser nimmt von den Rekordspritzen nicht unerhebliche Mengen Blei auf. Auch der Sterilisator darf selbstverständlich kein Blei abgeben. Es ist deshalb am sichersten, zur Blutentnahme Venülen zu verwenden.

Die Quarzschalen, in denen die Veraschung vorgenommen wird, dürfen früher nicht zur Erhitzung bleihaltiger Substanzen benützt worden sein. Auch nach intensivster Reinigung, Ausschmelzen mit Kaliumhydrogensulfat oder Behandlung mit Flußsäure, sind die Schalen nicht wieder brauchbar, die Analysen fallen stets zu hoch aus. Bleiplatten dürfen sich nicht in der Nähe befinden, so daß die verwendeten Geräte mit ihnen in Berührung kommen können. Alle benutzten Geräte und Schalen werden mit verdünnter Salpetersäure gereinigt, Glasstäbe werden mit Chlorsilanen* hydrophobiert, Pinzetten haben Kunststoff-

* Siliconölemulsion Bayer H und Alkylchlorsilan zur Hydrophobierung wurden uns von den Farbenfabriken Bayer Leverkusen zur Verfügung gestellt.

spitzen. Nur quarzdestilliertes Wasser, das in Flaschen aus Kunststoff aufbewahrt wird, ist genügend bleifrei, alle Reagenzien und Zusätze werden besonders gereinigt, auch wenn sie aus analysenreinen Materialien hergestellt worden sind. Auch sie werden grundsätzlich in Flaschen aus Kunststoff aufbewahrt.

Umgekehrt müssen zur Vermeidung von Bleiverlusten die Glasgefäße, in denen Harn eingeliefert wird, mit ein wenig warmer verdünnter Salpetersäure nachgespült werden. Blei wird leicht von Glaswandungen absorbiert und ist besonders auch in Trübungen enthalten. Auch für die Aufbewahrung von Harn sind Kunststoffgefäße vorzuziehen.

Die Testproben.

Für die Bleibestimmung im eisenreichen Vollblut wären Tests mit verhältnismäßig großem Eisengehalt erforderlich, die Tests für anderes Analysenmaterial sollten dagegen weniger Eisen enthalten. Es hat sich aber gezeigt, daß man eine einheitliche Testreihe für alle Proben verwenden kann, wenn den Testen ein Viertel der im Vollblut enthaltenen Eisenmenge zugesetzt wird. Diese Eisenmenge wird auch zu allen Analysenproben mit Ausnahme des Vollblutes gegeben. Das Intensitätsverhältnis Bleilinie/Indiumlinie wird durch die Verringerung der Eisenmenge nicht verändert.

Die Tests werden am besten in Form der Asche aufbewahrt. Sie enthalten etwa ebensoviel Hauptmineralstoffe wie nach der Anreicherung in der Blutasche zurückbleiben. Obwohl die Tests künstlich hergestellt werden, sind sie doch der angereicherten Asche des Blutes und der Organe genügend ähnlich. Außerdem haben Unterschiede von Probe und Test keine große Bedeutung, weil sich das Bezugselement Indium ähnlich verhält wie Blei.

Die Aufnahme.

Die Anregung erfolgt mit dem hochfrequenzgezündetem Wechselstromabreißbogen mit 220 V Betriebsspannung und nur 10 Ohm Vorwiderstand. Ein hochbelasteter Abreißbogen ist nach unseren Erfahrungen empfindlicher und auch genauer als ein normaler. Es wird so lange abgefunkt, bis das Analysenmaterial gerade vollständig verdampft ist (15 Sekunden).

Bemerkungen zur Auswertung der Aufnahme.

Die Bleilinie 2833 Å kann, soweit es sich um die Analyse von Vollblut mit einem mittleren Spektrographen handelt, wegen der unmittelbar benachbarten starken Eisenlinie 2832,4 Å nicht ausgewertet werden. Die von uns verwendete Bleilinie 4057,8 Å fällt zwar mit der schwachen Eisenlinie 4058,2 direkt zusammen, diese Eisenlinie stört aber erst bei sehr kleinen Bleigehalten, die für die Diagnose einer Bleivergiftung keine

Rolle spielen. Außerdem kann die etwas stärkere, benachbarte Eisenlinie 4055,0 Å als Kontrolle benutzt werden. Bei größeren Mangangehalten (Stuhl) kann auch Mn 4058,0/9 Å stören. Kontrolle = Mn 4055,5 Å.

Obwohl die Indiumlinie 4102 Å in der Nähe der Bleiinie liegt, ist doch die Indiumlinie 3258,6 Å (nicht 3256 Å) als Bezugslinie vorzuziehen, weil die zuerst genannte Linie eine große Selbstabsorption zeigt und außerdem auf einem oft starken, anscheinend durch eine Calciumverbindung verursachten Bandenuntergrund liegt. Bei der Auswertung mit dem Rechengerät nach *Kaiser*⁹ werden die verschiedenen Kontrastfaktoren der Analysen- und der Bezugslinie berücksichtigt, bei beiden Linien wird der spektrale Untergrund ausgeschaltet. Für beide Linien kann die gleiche Schwärzungstransformation angewandt werden, weil es mit Untergrundkorrektur von untergeordneter Bedeutung ist, ob die Schwärzungslinie möglichst genau gerade gestreckt wird.

Da stets Tests und manchmal auch Kontrolllösungen mit aufgenommen werden, ist die Anwendung eines Brückenspektrums, für das sich Eisenlinien anbieten würden, nicht erforderlich, obwohl die Schwärzungskurven in den beiden Wellenlängenbereichen sehr verschieden sind.

Im Normalblut finden wir 20 bis 40 µg Blei in 100 ml, im Normalserum etwa 10 µg. Bleiarbeiter können 60 bis 80 µg Blei in 100 ml Blut und darüber aufweisen, ohne bleikrank zu sein, oft zeigen sich aber von etwa 70 µg ab Tüpfelzellen und Porphyrin im Urin. Bei höheren Bleigehalten liegt sehr häufig eine Bleivergiftung vor, in schweren Fällen haben wir bis zu 300 µg Blei in 100 ml gefunden.

Der mittlere Fehler $\sqrt{\frac{\sum v^2}{n-1}}$ aus 16 Probenwerten (32 Einzelwerten)

des gleichen Blutes ergab sich zu $\pm 5,4\%$ (v Abweichung vom Mittel, n Anzahl der Proben), aus den 32 Einzelwerten zu $\pm 7,0\%$. Ein Vergleich der spektrochemischen Analyse mit der Dithizonmethode und der polarographischen Bestimmung zeigte eine befriedigende Übereinstimmung der Resultate (Tabelle 2). Bei genügender Ausrüstung, namentlich mit Schalen, kann ein Analytiker im Tag etwa 16 Proben untersuchen. Auf die gleiche Weise können auch Mn, Cu, Zn, Cd, Cr und andere Elemente im Vollblut bestimmt werden, wenn die Tests geeignete Mengen dieser Elemente enthalten und als Bezugselemente noch Palladium und Gallium hinzugefügt werden. In anderem biologischem Material gewinnt die Bestimmung an Empfindlichkeit, wenn man auf die Zugabe von Eisen verzichtet und Elektroden mit nur 3 mm Durchmesser verwendet.

Tabelle 2. Bleianalysen mit verschiedenen Methoden.

	mit Dithizon*	polarographisch* µg Pb in 100g	spektrochemisch
Leber 1	0,44	0,45	0,38
2	0,25	—	0,29
3	0,20	0,25	0,16
4	1,13	—	1,07
5	0,57	0,61	0,53
Blut	0,045	0,043	0,040
	und 0,037		

* Die mit der Dithizonmethode und polarographisch ermittelten Analysenwerte gehen auf eine Gemeinschaftsarbeit des Chemiker-Ausschusses der Gesellschaft Deutscher Berg- und Hüttenleute zurück.

Gang der Analyse.

Geräte:

10-ml-Quarz- oder -Platinschalen, halbrund, ohne Ausguß; für Urin 30-ml-Schalen;
Siebfilterstäbchen aus Plexiglas;
Papierfilter mit Fortsatz, 9 mm Durchmesser, mit warmer spektralreiner HCl in Quarzschale gereinigt;
Al-Elektroden, 5 mm Durchmesser, 99,9985% Al*;

* Geliefert von den Vereinigten Aluminiumwerken, Erftwerk, Grevenbroich, Niederrhein.

Al-Trockenblock mit Temperaturregulierung;

Rührer aus nichtrostendem Stahl von besonderer Form, etwa 4000 U/Min.
 Lösungen, in Flaschen aus Kunststoff aufbewahrt:

HCl, isotherm destilliert (Abrahamczik):

Kunststoff- oder Quarzschalen mit quarzdestilliertem Wasser 2 Tage in
 einem Exsiccator stellen, der im unteren Teil ungefähr die doppelte
 Menge konz. HCl p. a. enthält. Exsiccatordeckel paraffinieren. Die so
 gewonnene HCl ist spektralrein (sp. r.), sie wird mit quarzdest. Wasser
 auf etwa 10% eingestellt.

10%ige Na₂CO₃-Lösung, mit Dithizon gereinigt.

1%ige Eisenlösung: 1,0 g Carbonyleisen in 25 ml etwa 10%iger sp. r. HCl
 lösen (Quarzgefäß), mit quarzdestilliertem Wasser auf 100 ml auffüllen.

Bezugslösung: 0,004% In(Ga, Pd): 2 ml 0,1%ige In(Ga, Pd)-Lösung und 1 ml
 sp. r. HCl mit quarzdestilliertem Wasser auf 50 ml. Verdünnung alle 4 Wo-
 chen erneuern. 0,1%ige In-Lösung = 0,071 g In₂S₃ in 1 ml sp. r. HCl lösen,
 auf 50 ml. (0,1% Ga = 0,0672 g Ga₂O₃ in 2 ml sp. r. HCl lösen, auf 50 ml.
 0,1% Pd = 0,086 g Pd Cl₂ (58,14% Pd) und 1 ml sp. r. HCl auf 50 ml.)

Zusatzlösung: In Pt-Schale 20 g Glukose reinst, 4 g Glykokoll nach Sørensen
 und 4 g Harnstoff p. a. mit etwa 20 ml quarzdestilliertem Wasser be-
 feuchten, auf dem Wasserbad eintrocknen und einige Stunden auf 100° C
 halten. Die Masse färbt sich unter lebhafter Gasentwicklung dunkelbraun
 und wird zähflüssig. Das Erhitzen fortsetzen, bis ein Gewichtsverlust
 von 10% eingetreten ist, die organische Substanz also noch 25,2 g wiegt.
 Zu langes Erhitzen verringert die Haftfähigkeit. Den tiefbraunen Rück-
 stand in 100 ml quarzdestilliertem Wasser lösen, wobei eine Volumen-
 zunahme auf etwa 116 ml eintritt. Der Lösungsvorgang dauert einige
 Zeit. Mit 0,1 ml Chloroform haltbar machen.

Elektrodenlösung:

4 g NaCl p. a. 4 g Zitronensäure p. a.;

1 g KCl p. a. 0,1 g Ca = 10 ml 1% Ca (2,50 g CaCO₃ p. a. + 20 ml sp. r.
 HCl auf 100 ml);

3 ml 3-n H₃PO₄;

auf etwa 50 ml verdünnen, mit NH₃ p. a. auf pH 7 bis 8 einstellen (etwa
 6 ml 25%iges NH₃), durch Ausschütteln mit Dithizonlösung in CCl₄ bis
 zur bleibenden Grünfärbung reinigen. 0,02 g Mg = 2 ml 1%ige Mg-Lösung
 (8,82 g Mg-Acetat 4 H₂O p. a. in 100 ml) und 10 ml gereinigte 1%ige Si-
 Lösung zugeben (10 g Na₂SiO₃·5H₂O und 0,4 g NaOH auf 100 ml lösen.
 Davon 10 ml zur Reinigung mit 0,5 ml 1%iger Ca-Lösung teilweise fällen,
 Zentrifugat zur Elektrodenlösung zugeben), außerdem 20 ml sp. r. HCl,
 auf 100 auffüllen. Wie bei der Zusatzlösung 20 g Glukose usw. kondensieren,
 das Kondensationsprodukt aber nicht in Wasser, sondern in der eben be-
 schriebenen Elektrolytlösung lösen.

„Reagens“ A, 100 ml:

2 g Na-pyrrolidindithiocarbamat, Herstellung siehe¹⁰;

100 ml quarzdestilliertes H₂O;

0,1 g Hydrazinsulfat p. a.;

1 ml Reagenz B (bei der 1. Herstellung nicht möglich);

1 ml 3-n H₃PO₄;

2 ml 1%ige Ca-Lösung;

Einige Tropfen Bromthymolblau;

Wenig NH₃, bis zum Umschlag;

Niederschlag abfiltrieren. In Kunststoffgefäß aufbewahren. Ein farbloser
 Niederschlag, der sich später bildet, ist ohne Bedeutung.

Reagens B, 100 ml (gebraucht wird die 3fache Menge von A):

3 g Anthranilsäure;

2 g 8-Oxychinolin (Oxin);

2 g Phthalsäure;

in 10 ml Eisessig unter Erwärmen lösen;

100 ml quarzdestilliertes Wasser zusetzen. Ein entstehender Niederschlag
 löst sich nachher mit NH₃ wieder auf.

Mit NH₃ p. a. auf pH 4,8 einstellen (pH-Papier, etwa 11 bis 12 ml 25%ige
 NH₃ erforderlich), wenn eine erneute Fällung eben beginnt, 2 ml Re-
 agens A zusetzen. Über Nacht stehen lassen, durch Blauband-Filter in
 eine Kunststoffflasche filtrieren.

Teste, entsprechend 100 ml Blut:

Begleitstoffe: 20 mg Ca = 50 mg CaCO₃ p. a.

100 mg Na = 365 mg NaHCO₃ p. a.

40 mg K = 138 mg K₂CO₃

15 mg P = 0,5 ml 3%ige P-Lösung oder 3n-H₃PO₄

2 g Zitronensäure p. a.,

auf 20 ml auffüllen, mit NH₃ auf etwa pH 8 einstellen, zur Reinigung mit
 Dithizon in CCl₄ ausschütteln bis die organische Phase nicht mehr rot
 wird.

In 30-ml-Quarzschalen folgende Analysenelementmengen geben:

Test:	0	I	II	III	IV
Pb μ g	—	20	40	80	160
ml ...		0,2	0,4	0,8	1,6 ml 0,01% Pb-Lösung.

1%ige Pb-Lösung: 1,83 g Pb-acetat $3\text{H}_2\text{O}$ p. a. und 1 ml konz. HNO_3 auf 100 ml. Pb-Gehalt komplexometrisch nachprüfen.

Test:	0	I	II	III	IV
Cu, Zn μ g	—	100	200	400	800
ml		0,10	0,2	0,4	0,8 ml 0,1% Cu, Zn-Lösung.

Außerdem: je 0,4 ml 0,1% In-, Ga-, Pd-Lösung (= je 400 μ g)

- 1 ml 1% Fe-Lösung (= 10 mg Fe);
- 2 ml Lösung der Begleitstoffe;
- 1 mg Mg = 0,1 ml 1%ige Mg-Lösung (8,82 mg Mg-acetat $4\text{H}_2\text{O}$ p. a. in 100 ml);

gut mischen, auf dem Wasserbad eintrocknen, bei 500°C glühen, die rotbraune Asche wiegen, mit Achatpistill zerreiben. In kleinen Präparatgläsern aufbewahren. Für die Analyse $1/_{50}$ der Menge entsprechend 2 ml Blut direkt auf 2 Elektroden bringen.

Probemenge: 2 ml Vollblut, homogenisiert;

- 4 ml Serum;
- 10 ml Urin;
- 0,2 g Stuhl, Trockensubstanz bestimmen;
- 1 g Organ, Trockensubstanz bestimmen;
- 0,2 g Haare; 0,1 g Knochen.

Die Anreicherung des Bleis.

Zu den flüssigen Proben in 10-ml-Quarz- oder -Platinschalen (Urin: 30-ml-Schalen):

- 20 mg Na_2CO_3 = 0,2 ml 10%ige gereinigte Lösung;
- 0,2 mg Fe = 0,2 ml 0,1%ige Fe-Lösung (außer zu Vollblut);
- 8 μ g In(Ga, Pd) = 0,20 ml 0,004%ige Bezugslösung.

Zu Urin außerdem 0,2 ml Zusatzlösung als organische Substanz. Trocknen, im Luftbad verkohlen, im Muffelofen bei 500°C soweit wie möglich veraschen, etwa 30 Minuten. Mit Achatpistill zerreiben.

Zur Asche zuerst 0,5 ml Reagens A, dann 1,5 ml Reagens B geben. Mit hydrophobiertem 2-mm-Glasstab umrühren und von Schalenwand lösen. Mit quartzdestilliertem Wasser befeuchtetes, gereinigtes Filterchen auf Plexiglas-Filterstäbchen bringen (Pinzette mit Kunststoffspitzen), Reagens absaugen. Vakuum aufheben, Filter zum Rückstand geben. Zur Reinigung sp. r. HCl und quartzdestilliertes H_2O durch Filterstäbchen saugen. Rückstand und Schale bei 500°C glühen, etwa 20 Minuten. Die Anreicherung kann durch Wiegen verfolgt werden.

Die Behandlung mit Reagens A + B, das Absaugen und Glühen so oft wiederholen, bis die Asche nicht mehr als 5 mg wiegt. Sie ist dann meist rotbraun durch das anwesende Eisen. Bei Vollblut und Serum genügen gewöhnlich 2 bis 3 Behandlungen mit Reagens, andere Proben, besonders Urin und Organe, müssen öfter ausgezogen und geglüht werden.

Feste Proben zuerst in Kohle verwandeln (Muffelofen bei 450°C), mit einem kleinen Achatpistill Kohle in der Schale zerreiben. Zu Kohle zugeben:

0,2 ml Zusatzlösung,

Na_2CO_3 , Fe und Bezugslösung wie zu Flüssigkeiten, trocknen, von neuem verkohlen, nochmals sorgfältig zerreiben, veraschen. Mit Reagens ausziehen und weiterbehandeln wie die flüssigen Proben.

Knochen (100 mg) mit 0,4 ml sp. r. HCl eintrocknen, zuletzt im Luftbad, mit Zusatzlösung, Na_2CO_3 , Fe und Bezugslösung erneut trocknen; verkohlen, veraschen usw. wie bei Blut.

Die angereicherte Asche mit schräg geschnittenem Federkiel sammeln und je zur Hälfte auf 2 abgedrehte und mit etwa 10%iger warmer HNO_3 gereinigte 5-mm-Al-Elektroden bringen, mit einer Spur Alkohol aus einer Mikropipette befeuchten und 0,010 ml Elektrodenlösung zusetzen, durch Klopfen auf der ganzen Elektrodenoberfläche verteilen, bei 95°C trocknen.

Von den Testproben (I bis III oder II bis IV) eine Menge abwiegen, die 2 ml Vollblut entspricht und 8 μ g Bezugselement enthält, auf 2 Elektroden bringen und weiterbehandeln wie die Analysenproben.

Die Aufnahmebedingungen.

Gegenelektrode: 5-mm-Aluminiumstäbchen, Stirnseite eben.
Elektrodenabstand: 2 mm.
Spektrograph: Q 24 mit Zwischenabbildung. Spalt 15 μ .
Drei-Stufen-Filter: 100% 50% (40%) 10% Durchlässigkeit.
Anregung: Wechselstrom-Abreibbogen mit Hochfrequenzzündung 220 Volt.
Bogen-Pause: 1 : 3 Rhythmus: 2/sec.
Vorwiderstand: 10 Ohm.
Lockkabel¹¹, doppelseitig (mit nur einem Lockkabel wird der benachbarte Teil der Elektrodenoberfläche bevorzugt abgefunkt).
Aufnahmedauer: 15 Sekunden, kein Vorfunkeln.
Platte: Perutz Spektral blau hart.

Die Auswertung.

Linien: Pb I 4057,8 Å, Untergrund auf der kurzwelligen Seite. Bezugslinie In 3258 Å Untergrund auf der langwelligen Seite. Im Rechengerät nach *Kaiser* aus den Photometerwerten ΔY^* feststellen. Schwärzungskurve gerade strecken**, Untergrund ausschalten. Bleilinie in

$$^* \Delta Y = \log I_{Pb}/I_{In}$$

** Beide Linien entweder mit der Seideltransformation T' oder mit der Transformation $0.5 S + 0.5 T$. Maximaler Ausschlag auf einer von der Gelatine befreiten Stelle der Platte.

Filterstufe 1, Indiumlinie in 0. Mit ΔY Eichlinie aufstellen oder Gerät direkt in Konzentrationen eichen und Tests nur als Kontrolle und Korrektur verwenden.

Herr *Kinzler*, Mechanikermeister, Stuttgart-Botnang, Aspenwaldstraße 45, stellte das Plexiglas-Filterstäbchen, den Stanzer und den Rührer her. Meinem Mitarbeiter, Herrn *Buck*, danke ich für zahlreiche Verbesserungsvorschläge und für die Ausführung von Versuchen.

Zusammenfassung.

Blei läßt sich in biologischem Material auch mit einem mittleren Spektrographen bestimmen, wenn es in der Asche angereichert wird. Der größte Teil der Begleitstoffe wird aus der Asche mit einem Reagens extrahiert, das Blei und andere Schwermetalle ungelöst zurückläßt. Die angereicherte Asche wird zusammen mit einer Haftlösung auf Aluminiumelektroden eingetrocknet. 2 ml Blut genügen für eine Doppelbestimmung bei einem Bleigehalt von 20 μ g in 100 ml.

Summary.

If lead in biological material is accumulated in the ash, it may be determined by means of even an intermediate spectrograph. The greater part of the lead is extracted from the ash with a reagent which leaves the lead and other heavy metals behind undissolved. The enriched ash together with a bonding solution is dried on aluminium electrodes. A duplicate determination can be carried out with 2 ml blood if the lead content is of the order of 20 μ g per 100 ml.

Literatur.

- ¹ *Kettering-Laboratorium*, Experimentelle Forschungen über Bleiaufnahme und Bleiausscheidung. Berlin: J. Springer. 1939.
- ² *A. Danielsson*, Informationstagung über die Bleikrankheit am 12. 9. 1952. Heft 3 der Schriften der Gesellschaft Deutscher Metallhütten- und Bergleute, Clausthal-Zellerfeld 1952. S. 97.
- ³ *V. Brustier, P. Cornec und H. Triche*, C. r. acad. sci., Paris **234**, 2367 (1952); Ref. Chem. Zbl. **1954**, 7018; Z. analyt. Chem. **139**, 366 (1953).
- ⁴ *G. Schrader*, Z. Hygiene **131**, 636 (1950); Diss. Göttingen 1946.
- ⁵ *K. Pfeilsticker*, Fiat-Bericht, Analyt. Chemistry 1946. S. 92. Vortrag Marburg 1950; Ref. Angew. Chem. **62**, 411 (1950).
- ⁶ *F. A. Pohl*, Z. analyt. Chem. **142**, 19 (1954).
- ⁷ *O. Leuchs*, Spectrochim. Acta **4**, 237 (1950).
- ⁸ *K. Pfeilsticker*, Spectrochim. Acta **4**, 100 (1950); Mikrochim. Acta [Wien] **1955**, 358; Ref. Angew. Chem. **66**, 758 (1954).
- ⁹ *H. Kaiser*, Spectrochim. Acta **4**, 351 (1951).
- ¹⁰ *G. Gleu und R. Schwob*, Angew. Chem. **62**, 320 (1950).
- ¹¹ *G. Balz*, Aluminium **26**, 60 (1944).

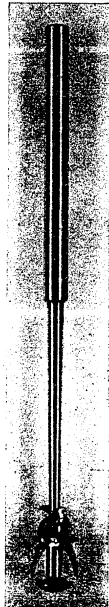


Abb. 1. Rührer und Zerteller aus nichtrostendem Stahl. Durchmesser an den Flügeln: 11 mm, Höhe: 20 mm. Für 8 ml-Ventilen.

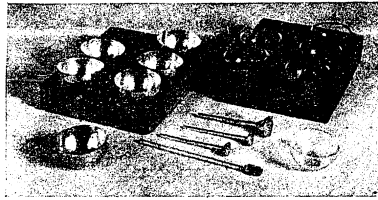


Abb. 2. 10-ml-Platin- und Quarzschalen, halbrund, ohne Ausguß, Platinfilterstäben und Platinspatel.

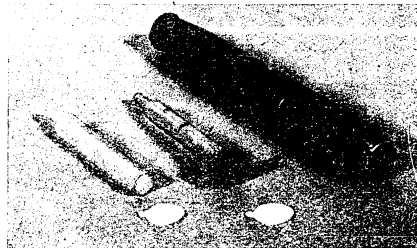


Abb. 3. Siebfilterstäben aus Plexiglas, 6 mm und 1 cm äußerer Durchmesser, zwei 9-mm-Filterchen mit Fortsatz. Stanzer aus nichtrostendem Stahl, links Öffnung zum Ausstoßen des ausgestanzten Filterpakets.

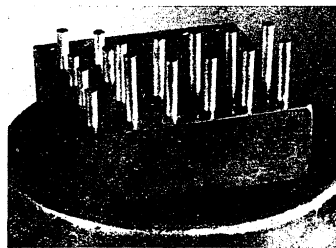


Abb. 4. 5-mm-Aluminiumelektroden mit Haftlösung. Al-Block auf Heizplatte mit Wärmeregulierung



Abb. 5. Eine 3-mm- und eine 5-mm-Elektrode mit eingetrockneter Haftlösung.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/40.

Zeilenanzahl: 277.

Department of Chemistry, The University, Birmingham 15, England.

The Microanalysis of Fluorine-Containing Organic Compounds.

IV. Determination of Fluorine in Presence of Phosphorus or Arsenic.

By

R. Belcher and A. M. G. Macdonald.

(Received April 7, 1955.)

It is well known that phosphate and arsenate interfere seriously with most of the direct methods for the determination of fluorine. *Chapman, Heap and Saunders*¹ and *Belcher, Caldas and Clark*² used a lead chloride precipitation followed by a *Volhard* titration but this method is not applicable below the semi-micro scale. *Emeléus, Haszeldine et al.* analysed fluoro-arsenic³ and fluoro-phosphorus⁴ organic compounds by heating the sample with sodium hydroxide for 24 hours at 50° to 80° C and measuring the volume of fluoroform produced: the method was not widely applicable, and other phosphorus-containing compounds were analysed by fusion with sodium followed by steam-distillation of fluosilicic acid and titration with thorium nitrate, but no details of the procedure were given⁴.

For the present work, we have retained the thorium nitrate titration for the determination of fluoride after the decomposition of the organic compound by fusion with sodium in a nickel bomb⁵. The phosphate or arsenate ions which are formed during the fusion interfere seriously with the titration and must be completely removed. Although distillation of fluosilicic acid effects a good separation from most interfering ions, we considered it desirable to seek a more convenient alternative.

The method of *Overman and Garrett*⁶ for the removal of phosphate or arsenate before the determination of sodium as zinc uranyl acetate seemed to be the most suitable. They added powdered zinc carbonate to the solution and after a) allowing to stand overnight, b) shaking frequently for 1 hour with warming, or c) boiling to reduce the volume from 20 ml to 10 ml, the solution was filtered and the sodium determined in the filtrate. The introduction of a large concentration of foreign ions was thus avoided since zinc carbonate is only slightly soluble. This would also be necessary in the thorium nitrate titration where the "salt effect" of many ions can be so disastrous.

In preliminary tests, it was found that an almost saturated solution of zinc carbonate did not affect the accuracy of the thorium nitrate titration on the micro scale using the back-titration procedure. However, colloidal zinc carbonate passed through any filter paper, and interfered by adsorbing the Alizarin Red indicator; attempts to centrifuge the precipitate were unsuccessful but filtration through a small layer of filter paper pulp was satisfactory.

The interference of phosphate and arsenate ions increased with increasing amounts of fluoride: with 250 µg of fluoride present, 1 µg of phosphorus, as phosphate, or 5 µg of arsenic, as arsenate, could be tolerated, the values being in reasonable agreement with those found by *Hoskins and Ferris*⁷. Preliminary testing of the three procedures given by *Overman and Garrett*⁶, using synthetic solutions, shewed that the first two procedures did not give a sufficiently complete removal for our purpose and the third was impossible because of the loss of fluoride by volatilisa-

tion. However, three other variations gave a satisfactory removal of phosphate without altering the fluoride content of the solution, viz., a) by just boiling the solution and then allowing it to cool overnight before filtration and titration, b) by just boiling the solution, cooling it in running water and filtering immediately, or c) by shaking for 1 hour in a mechanical shaker at room temperature followed by filtration. Only the first of these procedures was satisfactory for the removal of arsenate. In all cases, blanks were run simultaneously because a neutralisation titration had to be done before the thorium nitrate titration.

Difficulties were encountered when the procedure was applied to solutions obtained from the fusion of organic compounds with sodium. The fusion was done in the usual way, carbon dioxide and water being used for the destruction of excess of sodium⁸ because the oxidation products of ethanol by treatment with hydrogen peroxide, (which was used to convert any phosphorus and phosphide, or arsenic and arsenide, formed in the fusion, to phosphate or arsenate respectively².) interfered in the thorium nitrate titration⁵. The first procedure, i. e. boiling and allowing to cool overnight, was used for all the experiments on bomb solutions because it seemed to give the best removal of phosphate. The first results, which were most unsatisfactory, were obtained by treating the whole alkaline solution with zinc carbonate, after the oxidation and removal of the excess of hydrogen peroxide by boiling; the solution was then filtered and aliquots were taken for neutralisation and titration with thorium nitrate. Thus two separate neutralisations were avoided but the removal of the interfering ions from alkaline solution was incomplete. In the next variation, the fusion solution was filtered free from carbon and aliquots were treated with hydrogen peroxide, which was boiled off; the solutions were then neutralised, the neutralisation being found from a separate aliquot, and treated with zinc carbonate. After filtration, one aliquot was used for a second neutralisation and the other for the fluoride titration. The preliminary neutralisation of the solution remained essentially the same before and after the oxidation so that only two aliquots had to be treated. Using this procedure, the removal of the interfering ions was satisfactory but the results were rather erratic, probably because of the contrary effects of incomplete removal of hydrogen peroxide, which would give high results, and loss of fluoride by boiling the alkaline solution. Platinum destructor rods² were then used to assist the removal of peroxide but were not very satisfactory, especially in the presence of arsenate.

In the method which was finally evolved, the whole solution was treated with hydrogen peroxide before the filtration of carbon so that the carbon could act as a catalyst for the decomposition of peroxide at just below boiling point, and complete removal of the peroxide was ensured by boiling for one minute. The solution was then cooled and filtered and neutralised aliquots were treated with zinc carbonate. If the amount of alkali metal added to the bomb (enough to give a neutralisation titre of, say, 2 to 6 ml of 0.05 N hydrochloric acid) is kept reasonably constant, and if the amount of zinc carbonate added and the volume of the treated solution are constant, the treatment of a second aliquot for neutralisation is not necessary after a few determinations.

For preliminary testing of the final method, samples of *m*-trifluoromethylbenzoic acid and trifluoroacetylcyclohexylamine were mixed with varying amounts of triphenylphosphine or arsanilic acid, the largest amounts of interfering ions taken being equivalent to a sample of 3.5 mg of a compound containing 100% of arsenic or 45% of phosphorus. The results are given in Table I. No interference arose from the presence of nitrogen in the organic compound because any cyanide formed in the fusion was destroyed by the treatment with hydrogen peroxide. No compounds containing sulphur were tested, but sulphate interferes seriously with the thorium nitrate titration and the procedure would have to be modified.

Traces of phosphide and arsenide were found on the walls of the nickel bombs; to avoid accumulation, the bombs were boiled with hydrogen peroxide and washed thoroughly after every one or two determinations

Table I.

Compound	No. of Results	F present (%)	F found (%)	Average Error (%)	Maximum Error (%)
<i>m</i> -Trifluoromethylbenzoic acid + triphenylphosphine (3 to 12 mg at 1 mg intervals)	16	29.98	29.91	0.26	0.5
Trifluoroacetylcyclohexylamine + triphenylphosphine (as above) ..	10	29.23	29.17	0.24	0.36
<i>m</i> -Trifluoromethylbenzoic acid + arsanilic acid (4 to 12 mg at 1 mg intervals)	13	29.98	30.07	0.26	0.5
Trifluoroacetylcyclohexylamine + arsanilic acid (as above)	9	29.23	29.13	0.25	0.51

in addition to the usual cleaning with emery paper. Apart from the bombs, only the simplest apparatus was required for the determination; about eight determinations could conveniently be done simultaneously.

No compounds containing fluorine and arsenic were available; typical, consecutive results obtained with compounds containing fluorine and phosphorus are shown in Table II. The method also appears to be applicable to inorganic materials but, as no carbon was present to catalyze the decomposition of peroxide, it was necessary to add a few mg of some non-fluorine-containing compound before the fusion. The only sample used was a potassium salt, so fusion with potassium and standard potassium fluoride solution were used to avoid mixing ions⁵.

Some difficulty was found in the determination of carbon and hydrogen in the fluoro-phosphorus compounds. The use of tungstic oxide in the determination of carbon and hydrogen in phosphorus-containing compounds has been suggested by *Belcher* and *Fildes*⁹. A porcelain boat (3 cm long) of tungstic oxide was placed half into the main combustion furnace and the sample in the platinum boat was covered with a layer of tungstic oxide; in other respects, the apparatus was the same as that described by *Belcher* and *Goulden*¹⁰. It was most important to heat the contents of both the boats very strongly for 2 to 3 minutes at the end of the second combustion. Very satisfactory results, which are given in Table II, were obtained by this method.

Table II.

Compound	C present (%)	C found (%)	H present (%)	H found (%)	F present (%)	F found (%)
C ₂₁ H ₁₂ O ₄ F ₉ P ..	47.55	47.10	2.28	2.23	32.25	32.15
C ₁₂ H ₁₂ O ₄ F ₁₀ P ₂ ..	22.15	22.22	1.84	1.89	46.80	46.98
C ₁₄ H ₁₄ O ₄ F ₃ PN ₂ ..	50.90	50.80	4.27	4.40	17.25	17.12
C ₁₆ H ₁₈ O ₄ F ₃ N ₂ P ..	53.62	53.51	5.06	5.07	15.91	16.16
C ₄ H ₄ O ₃ F ₆ NP ..	18.40	18.49	2.32	2.21	43.66	43.43
C ₁₀ H ₁₀ O ₃ F ₆ NP ..	35.62	35.73	2.99	2.90	33.81	33.62
C ₁₂ H ₆ O ₄ F ₂₁ P ..	22.40	22.29	0.94	0.93	61.94	61.60
Potassium hexafluorophosphate	—	—	—	—	61.93	61.50 61.82

Experimental.

Reagents:

Solid zinc carbonate. Reagent Grade.

Hydrogen peroxide. 100-volume M. A. R.

The other reagents are exactly as given by *Belcher* et al.⁵.

Fusion Procedure:

The fusion was done in the way described by *Belcher* et al.⁵. After the bomb had been opened, the lid was rinsed with a few ml of distilled water and the cup was placed in a 100-ml beaker and filled with small lumps of solid carbon dioxide. After 1 to 2 minutes, distilled water

was added at a rate of about 1 drop every 15 seconds, more carbon dioxide being added if necessary. When the reaction was complete, the contents of the bomb were stirred with a small nickel rod and the cup was filled with water. The cup was then rinsed with water quantitatively and removed from the beaker. The volume at this point should not be greater than 35 ml.

Oxidation and Titration procedure:

0.5 ml of the hydrogen peroxide was added to the solution which was covered and boiled very gently for a few seconds. The solution was then kept warm, but not boiling, until the effervescence ceased. The watch-glass was then rinsed and replaced and the solution was boiled not too briskly for about one minute to ensure the decomposition of the peroxide. The whole decomposition should not take longer than 5 to 10 minutes.

After being allowed to cool, the solution was transferred quantitatively to a 100-ml volumetric flask, made up to the mark, and filtered through paper using dry apparatus.

An aliquot of 20 ml (10 ml if the percentage of fluorine was very large) was neutralised with 0.05 N hydrochloric acid using Hoppner's indicator. Two further aliquots were placed in 50 ml conical flasks and the amounts of acid required for neutralisation were added. The solutions were diluted to 35 ml (a mark being pencilled on the flask) and 100 mg of solid zinc carbonate (roughly weighed) were added. The solutions were covered, heated just to boiling and allowed to cool overnight.

The solutions were filtered into 50-ml Nessler cylinders through paper pulp pads, approximately 0.5 cm thick, in funnels with diameters of approximately 5 cm and shortened stems about 2 cm long; the pad was supported on a Witt plate with a diameter of 1.5 cm. After all the solution had passed through the filter, the flask was rinsed quantitatively with 5 to 6 ml of distilled water in 3 to 4 portions and then the funnel was rinsed with 4 to 5 ml of water in 3 portions, each portion being allowed to drain before the addition of the next. The final volume of the solution was thus about 45 ml.

One of the aliquots was neutralised with 0.05 N hydrochloric acid using Hoppner's indicator and this amount of acid was added to the second aliquot. As previously mentioned, this second neutralisation may be omitted after a few determinations because it remains constant if the conditions are kept reasonably constant. The fluoride content of the second aliquot was then found by titration with thorium nitrate and back-titration with a standard solution of sodium fluoride using Alizarin Red S as indicator, following the instructions for non-nitrogen-containing compounds given by Belcher et al.⁵ (remember to take into account all the sodium chloride arising from the two neutralisations). The volume of the solution in the final titration need not be restricted to exactly 50 ml provided that the conditions in the test and comparison cylinders are kept the same.

We wish to express our thanks to Dr. K. Sellars for the provision of samples and to Dr. J. C. Tallow for his interest in this project.

References.

- ¹ N. B. Chapman, R. Heap and B. C. Saunders, *Analyst* **73**, 434 (1948)
- ² R. Belcher, E. F. Caldas and S. J. Clark, *Analyst* **77**, 602 (1952).
- ³ G. R. A. Brandt, H. J. Emeléus and R. N. Haszeldine, *J. Chem. Soc. London* **1952**, 2554.
- ⁴ F. W. Bennett, H. J. Emeléus and R. N. Haszeldine, *J. Chem. Soc. London* **1953**, 1568.
- ⁵ R. Belcher, E. F. Caldas, S. J. Clark, and A. M. G. Macdonald, *Mikrochim. Acta [Wien]* **1953**, 283.
- ⁶ O. R. Overman and O. F. Garrett, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **9**, 72 (1937).
- ⁷ W. M. Hoskins and C. A. Ferris, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **8**, 6 (1936).
- ⁸ R. Belcher, A. M. G. Macdonald and A. J. Nutton, *Mikrochim. Acta [Wien]* **1954**, 104.
- ⁹ R. Belcher and J. E. Fildes, *Analyt. Chim. Acta*, in press.
- ¹⁰ R. Belcher and R. Goulden, *Mikrochem.* **36/37**, 679 (1951).

Summary.

The method previously described for the micro-determination of fluorine in organic compounds by fusion with alkali metal in a nickel bomb followed by a thorium nitrate titration using a back-titration procedure, has been modified to meet the interferences caused by the presence of phosphorus and arsenic in the organic compound. The method of *Overman* and *Garrett* for the removal of phosphate and arsenate ions by the addition of solid zinc carbonate was adapted for the quantitative removal of those ions. Difficulties in the determinations of carbon and hydrogen in fluoro-phosphorus compounds were overcome by mixing the samples with tungstic oxide.

Zusammenfassung.

Die früher beschriebene Methode zur Mikrobestimmung von Fluor in organischen Verbindungen durch Schmelzen mit Alkalimetall in einer Nickelbombe und nachfolgende Titration mit Thoriumnitrat unter Verwendung eines Rücktitrationsverfahrens wurde weiter ausgearbeitet, um Störungen durch allenfalls anwesenden Phosphor oder Arsen zu vermeiden. Die von *Overman* und *Garrett* angegebene Bindung von Phosphat und Arsenat durch Zusatz von festem Zinkcarbonat wurde zu einer quantitativen Entfernung dieser Ionen entwickelt. Schwierigkeiten bei der C-H-Bestimmung in fluor- und phosphorhaltigen Verbindungen können durch Mischen der Probe mit Wolframoxyd umgangen werden.

Aus dem Institut für anorganische Chemie und dem Analytischen Laboratorium der Metallgesellschaft AG., Frankfurt am Main, Deutschland.

Zum Problem der Partner bei der Flammenspektrometrie.

Von

J. Fischer und A. Doiwa.

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 7. April 1955.)

A. Die gewählten Bezeichnungen.

Einleitend sei uns eine Bemerkung zu der Bezeichnungsweise „Flammenspektrometrie“ gestattet. Wie wir bereits an anderer Stelle¹ ausgeführt haben, halten wir diesen Ausdruck für richtiger und zweckmäßiger als die sonst übliche Bezeichnungsweise Flammenphotometrie. Bei dieser Methode handelt es sich — selbst wenn sie Filter zur Aussonderung der zu messenden Analysenlinie verwendet — um eine echte Spektralanalyse mit allen wesentlichen Kennzeichen dieses Verfahrens. Dementsprechend zeigt auch die als Teilgebiet der Lösungsspektralanalyse anzusehende Flammenspektrometrie die gleichen Störungen, die als das Problem der dritten Partner bekannt sind.

Die Änderung der Emission einer charakteristischen Wellenlänge eines Elementes durch das Hinzutreten eines zunächst nicht vorhandenen Partners bei sonst unveränderten Verhältnissen wollen wir als das „Problem der Partner“ definieren und speziell für die Flammenspektrometrie behandeln. Die wissenschaftliche Bedeutung dieses Problems liegt auf der Hand. Für die praktische Anwendung der Flammenspektrometrie als analytische Methode bedeutet es eine beträchtliche Einschränkung der erreichbaren Genauigkeit.

B. Die Flammenspektrometrie als Mikromethode.

I. Allgemeine Bemerkungen.

Über die Flammenspektrometrie als analytisches Hilfsmittel ist kurz zu sagen, daß sie wegen der hohen Empfindlichkeit und wegen der niedrigen Erfassungsgrenze eine sehr leistungsfähige Mikromethode darstellt. Ihr Wert wird noch dadurch erhöht, daß sie durch den Fortfall zeitraubender und zahlreiche Fehlermöglichkeiten bergender Trennungen und durch die Möglichkeit einer direkten Ablesbarkeit der Meßgrößen als Schnellmethode angesprochen werden muß.

II. Empfindlichkeit.

Zur Bestimmung der Alkalien mit der üblichen Arbeitstechnik ohne besondere Aufwendung zur Erfassung kleinster Gehalte sind die folgenden Mengen voll ausreichend:

0,1 μg Li; 0,1 μg Na; 0,1 μg K; 0,3 μg Rb; 0,8 μg Cs.

Allerdings liegen die Verhältnisse bei den Alkalien besonders günstig. Ähnliche Empfindlichkeiten werden nur von einem kleinen Teil der dreißig bis fünfzig grundsätzlich flammenspektrometrisch bestimmbar Elemente erzielt.

III. Reproduzierbarkeit.

Die Reproduzierbarkeit der Flammenspektrometrie liegt je nach Qualität der verwendeten Apparatur bei ± 2 bis $\pm 0,5\%$. Dieser Re-

produzierbarkeit entspricht auch die Richtigkeit, so lange es möglich ist, für die Eichung Lösungen zu verwenden, die in ihrer Zusammensetzung den Analysenlösungen weitgehend gleich sind. Die Erfüllung dieser Forderung bedingt unter Umständen einen recht beträchtlichen Arbeitsaufwand. Ohne ihn können unter dem Einfluß der Partner, beispielsweise bei der Analyse von Alkalisalzgemischen, aber auch in vielen anderen Fällen Plus- und Minusfehler von 100% und mehr auftreten.

C. Der Einfluß der Partner auf die Genauigkeit.

I. Ausschaltung sekundärer Störungen.

Es kann nun, um mit einem sehr einfachen Beispiel zu beginnen, nicht ohne weiteres gesagt werden, daß die zu messende Zunahme der Intensität einer Alkalimetalllinie durch Zusatz eines Alkohols einen echten Einfluß des Partners Alkohol im oben definierten Sinne darstellt. Durch diesen Zusatz werden die Verhältnisse in der Lichtquelle geändert. Erst nach der rechnerischen Berücksichtigung oder experimentellen Eliminierung kann eine Aussage über die Echtheit des Einflusses gemacht werden. Um das Beispiel zu Ende zu führen, verweisen wir auf die Abbildung. Kurve I zeigt die unmittelbar gemessene Emission von Lithium in Abhängigkeit vom Gehalt an Methanol. Die einen weitgehend anderen Verlauf zeigende Kurve II ergibt sich, wenn die durch das Methanol verursachte Änderung der Ansauggeschwindigkeit — die auf die Viskositätsänderung der Lösung zurückzuführen ist — eliminiert wird. Die Kurve III wird erhalten, wenn die unterschiedliche Oberflächenspannung rechnerisch berücksichtigt wird. Aus ihr ist ersichtlich, daß über einen weiten Bereich die Emission konstant bleibt, wenn Wasser durch Methanol ersetzt wird. Der noch verbleibende erste Anstieg der Kurve, für deren Ursache wir eine befriedigende Erklärung noch nicht geben können, zeigt, zusammen mit den Kurven I und II, anschaulich den stark komplexen Charakter des hier zu behandelnden Problems.

Wir müssen danach unterscheiden zwischen sekundären Störungen und dem echten Einfluß der Partner auf die Emission. Wir werden dabei aber in einigen Fällen nicht in der Lage sein, eine eindeutige Zuordnung treffen zu können. Zu den sekundären Störungen rechnen wir vornehmlich Fremdstörstörungen infolge mangelhafter Isolierung des Lichtes der Analysenlinie von Linien, Banden oder Kontinuen der Partner und den Einfluß der Störkomponenten auf die Ansauggeschwindigkeit der Analysenlösung, der durch eine Änderung der physikalischen Eigenschaften, vor allem der Viskosität der Lösung, bedingt ist. Diese sekundären Störungen lassen sich durch eine Vergrößerung des meßtechnischen Aufwandes — Anwendung von Monochromatoren und Kontrolle der Ansauggeschwindigkeit — fast vollständig ausschließen.

Die Änderung der physikalischen Eigenschaften der Analysenlösung bedingt aber nicht nur die experimentell leicht korrigierbare Änderung der Ansauggeschwindigkeit, sondern auch eine Veränderung der Tröpfchengröße des in die Flamme gelangenden Aerosols. Der Einfluß des Dispersitätsgrades des Aerosols auf die Emission ist in mehreren Arbeiten beschrieben worden, ohne daß eine befriedigende Erklärung für den Mechanismus dieses Phänomens gegeben werden konnte^{2, 3}.

II. Echte Einflüsse der Partner.

1. Grundvorstellungen.

Als echten Einfluß der Partner möchten wir eine Verschiebung des Dissoziationsgrades der intermediär in der Flamme gebildeten Moleküle, ferner eine Änderung des Ionisationsgrades und damit der Anzahl der emissionsfähigen Teilchen ansehen. Sowohl die Dissoziation als auch die Ionisation sind von der Temperatur der Flamme und der Konzentration des zu bestimmenden Elementes in der Lösung abhängig. Beide werden mit zunehmender Temperatur größer, mit steigender Lösungskonzentration niedriger. Auf die Emission wirken sich aber die von Temperatur und Konzentration gleichsinnig abhängenden Faktoren entgegengesetzt aus. Die steigende Dissoziation erhöht die Emission, während

eine Vergrößerung der Ionisation mit einer Verminderung der Emission verbunden ist. Dies gilt, so lange die Linien der Atome (Bogenspektren) und nicht die der Ionen (Funkenspektren) zur Messung herangezogen werden. Diese Bedingung ist praktisch immer erfüllt, weil die in der Flamme gegebenen Anregungsbedingungen entweder überhaupt nur zu den Atomlinien führen oder diese wegen ihrer größeren Empfindlichkeit bei weitem bevorzugt werden.

Die vorstehend entwickelten Vorstellungen über die Ursachen einer Emissionsbeeinflussung durch Lösungspartner enthalten keine Aussage über die Art dieser Partner, insbesondere nicht, ob sie selbst emittieren oder nicht, noch ob es sich um Anionen oder Kationen handelt. An Hand der danach möglichen Klassifizierung sollen die Störpartner behandelt werden.

2. Der Einfluß nicht emittierender Partner.

a) Anionen.

Ein Einfluß der Anionen konnte eindeutig nur beim Phosphation festgestellt werden, und zwar in der Weise, daß seine Anwesenheit die Emission fast aller flammenspektrometrisch bestimmbarer Elemente erniedrigt. Als Ursache hierfür muß eine unvollständige thermische Dissoziation der Phosphate angenommen werden, eine Annahme, die durch die Tatsache gestützt wird, daß die Dissoziationsenergien der Phosphate höher liegen als die anderer hier in Frage kommender Salze.

b) Kationen.

Für den Einfluß nicht emittierender Kationen läßt sich als Faustregel angeben, daß diese die Emission immer vermindern, sofern sie nicht den Flammenuntergrund erhöhen. Auf die Frage des Flammenuntergrundes wird bei der Besprechung der emittierenden Partner noch einmal kurz eingegangen werden. Als wichtigstes nicht emittierendes Kation sei hier das Wasserstoffion erwähnt. Sein Einfluß ist nicht proportional seiner Konzentration. Innerhalb gewisser, relativ breiter pH-Bereiche, die von der Zerstäuberkonstruktion und der Absolutkonzentration des zu untersuchenden Elementes abhängig sind, ist die Emission konstant. Mit abnehmendem pH-Wert sinkt dann die Emission auf einen wieder über einen relativ breiten pH-Bereich konstanten Wert ab. Darüber hinaus kommt den H-Ionen — vor allem in größeren Konzentrationen und als Schwefelsäure — insofern eine günstige Wirkung zu, als sie Störungen durch andere Partner unterdrücken und oft eine direkte Messung ohne Berücksichtigung der Störkomponenten gestatten.

3. Der Einfluß emittierender Partner.

a) Kationen.

Emittierende Kationen erhöhen fast immer die Emission des zu untersuchenden Elementes, wie man einwandfrei bei der Isolierung der Analysenlinien durch einen Monochromator feststellen kann. Diese nicht auf Fremdlicht zurückzuführende Störung kann nur durch eine Verringerung des Ionisationsgrades des betreffenden Elementes erklärt werden. Die Ionisation wird durch Elektronen, die von dem Störpartner stammen, zurückgedrängt und dadurch die Anzahl der anregbaren Atome erhöht.

b) Flammengase.

Bei den emittierenden Partnern, die zu Fremdlichtstörungen, und zwar auch bei Verwendung von Monochromatoren, Anlaß geben können, müssen auch die Brenngase genannt werden, da sie durch ihre unterschiedliche Eigenemission den Flammenuntergrund in bestimmten Spektralbereichen sehr groß werden lassen und damit nicht nur die Empfindlichkeit der in diesen Spektralbereichen liegenden Linien, sondern auch die Genauigkeit der Messung selbst erheblich verringern. Bei der Wahl der Flamme ist deshalb nicht allein auf die optimale Temperatur Rücksicht zu nehmen, sondern auch auf ihre Eigenemission im interessierenden Bereich.

4. Der Einfluß der Temperatur.

Bei der Betrachtung des Störeinflusses muß auch kurz auf den großen

Einfluß der *Temperatur* auf die Emission reiner Alkalisalze eingegangen werden. Rein experimentell ist festzustellen, daß mit steigender Temperatur die Emission des Lithiums zunimmt, während die des Natriums konstant bleibt. Bei den schweren Alkalimetallen schließlich sinkt die Emission mit steigender Temperatur*, und zwar um so stärker, je höher

* Dies gilt nur für die hier zur Diskussion stehenden Bogenlinien. Die Intensität der Funkenlinien steigt dabei an.

das Atomgewicht ist. Vorstellungen über das Zusammenspiel zwischen Ionisation und Dissoziation sind aus diesen Befunden leicht abzuleiten, genauere Messungen, die die Grundlage für die mathematische Erfassung dieser Vorgänge bilden müßten, fehlen noch.

Untersuchungen über den Einfluß der Flammentemperatur auf die Größe der Störungen liegen für Rubidium und Cäsium vor⁴. Bei diesen Metallen wird mit sinkender Temperatur die Störung (Intensitätserhöhung) durch die anderen Alkalimetalle kleiner.

5. Der Einfluß der Konzentration.

In gleicher Weise wie eine Erniedrigung der Temperatur wirkt sich eine Erhöhung der Konzentration des Rubidiums und Cäsiums in der Flamme aus. Jedenfalls haben wir beim Rb und Cs bestätigen können, daß die durch Fremdkalium bedingten Fehler im Bereich von 10 bis 100 mg/l kleiner sind als im Bereich von 1 bis 10 mg/l.

Gerade umgekehrt liegen die Verhältnisse beim Lithium und wahrscheinlich auch beim Natrium und Kalium. Die in der Literatur angegebenen Meßkonzentrationen für Li, Na und K sind im allgemeinen um eine Zehnerpotenz höher als die von uns als optimal erkannten. Es werden dann Störungen beschrieben und Vorschläge zu ihrer Vermeidung diskutiert, die gar nicht erst auftreten, wenn man mit verdünnten Lösungen arbeitet. Um ein Beispiel zu geben: Es stören die in gewissen Lithiumerzen vorhandenen Mengen von Al, Na und K bereits jedes für sich die Li-Bestimmung empfindlich, wenn man im Konzentrationsbereich von 10 bis 100 mg Li/l mißt. Nimmt man die Messung dagegen im Bereich von 1 bis 10 mg Li/l vor, so sind Störungen nicht zu beobachten, selbst wenn man die relative Konzentration der Störpartner noch wesentlich erhöht. Bei dem Versuch einer Deutung des unterschiedlichen Verhaltens des Li wird vermutlich das hohe Ionisationspotential dieses Elementes zu berücksichtigen sein. Die mit steigender Temperatur zunehmende Emission des Li könnte durch die Annahme gedeutet werden, daß hier die Bildung einer sehr stabilen Verbindung (LiOH, Sugden⁵) und dessen thermische Dissoziation eine entscheidende Rolle spielen.

Wenn auch der kurze Überblick über die Probleme der gegenseitigen Beeinflussung gezeigt hat, daß wir von dem Endziel der Flammenspektrometrie — der direkten Bestimmung der Elemente ohne Berücksichtigung der anderen Lösungspartner — und der Klärung der Ursachen und des Mechanismus der Störungen noch ziemlich weit entfernt sind, so sei doch abschließend festgestellt, daß die Flammenspektrometrie zurzeit die einzig brauchbare Methode für die Analyse von Alkaligemischen darstellt.

Zusammenfassung.

Die Flammenspektrometrie — eine ausgezeichnete Mikromethode insbesondere für Gemische von Alkalien — erfordert bei quantitativen Aussagen die sorgfältige Berücksichtigung des Einflusses der Lösungsgenossen (Partner). Neben sekundären Störungen (Fremdlicht, Änderung der Zerstäubungsbedingungen), die sich weitgehend ausschalten lassen, treten durch Beeinflussung der Dissoziation und Ionisation in der Flamme echte Störungen auf. Es wird der große Einfluß der Temperatur und der Lösungskonzentration auf die durch Partner bedingten Fehler behandelt.

Summary.

Flame photometry, an excellent micromethod particularly for mixtures of alkalis, demands the most careful consideration of the influence of cosolutes (partners) if quantitative data are demanded. In addition to secondary interferences (foreign light, alteration of the atomizing conditions) which

are readily eliminated, real interferences occur because of the influence of dissociation and ionization in the flame. The great influence of the temperature and the concentration of the solution on the error arising from the cosolutes is discussed.

Literatur.

- ¹ H. Kaiser, J. Fischer und K. Laqua, Analyse der Metalle. Bd. II/2. Berlin: 1953.
- ² F. T. Egertsen, G. Wilde und L. Lykken, Symposium on Flame Photometry. ASTM 1951, 52.
- ³ R. D. Caton und R. W. Bremner, Analyt. Chemistry 26, 805 (1954).
- ⁴ A. Doiwa, Diplomarbeit, Frankfurt am Main, Februar 1955.
- ⁵ T. M. Sugden und Mitarb., Proc. Roy. Soc. London A 211, 58 (1952).

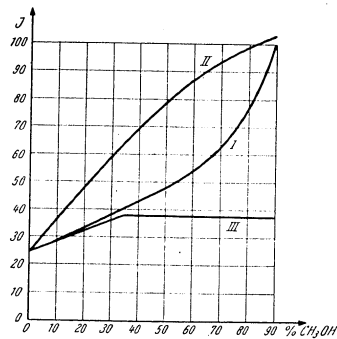


Abb. 1. Li-Emission in Abhängigkeit vom Methanolgehalt.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/42.

Zeilenanzahl: 124.

Aus dem Institut für physikalische Chemie der Universität Münster, Westfalen.

Spektralanalytischer Spurennachweis nach Anreicherung durch innere Elektrolyse.

Von

W. Seith und W. Gremm

Mit 2 Abbildungen.

(Eingelangt am 12. April 1955.)

Die Spektralanalyse von Spuren mit vorheriger Anreicherung durch innere Elektrolyse haben wir bereits 1941 durchgeführt¹. Es handelte sich damals um die Bestimmung von Bi, Pd, Pb, Sn und Tl in Feinzink und der Zinklegierung Zamak β . Die Verhältnisse lagen hierbei ziemlich einfach, denn alle Elemente, die bestimmt werden sollten, waren edler als Zink und ließen sich auf diesem gut abscheiden. Ferner war das Zink selbst nicht reich an Spektrallinien, sodaß diese nicht störten. Zamak β enthält zudem Cu in einer gerade geeigneten Menge, daß es als Bezugselement benutzt werden kann. Beim Feinzink wurden der Lösung einige mg Ni als Bezugselement zugesetzt.

Zur Analyse waren 0,5 bis 2 g Zn oder Legierung aufzulösen. In schwach salzsaurer Lösung erfolgte die Abscheidung auf runden Feinzinkstäben von 6 mm Durchmesser, die 6 cm tief in die Lösung getaucht waren, in 7 Stunden. Die Elektroden wurden in einer Dreielektrode schraubenförmig unter einer Al-Elektrode durchbewegt und mit einem durch Hochfrequenz gezündeten Wechselstrombogen abgetastet. Der Analysenbereich betrug bei allen Elementen 0,01 bis 0,0001%. Die mittleren Fehler lagen bei ± 5 bis 10%.

Heute soll nun über die Bestimmung von Pb in Fe berichtet werden, das im Fe meist in geringen Mengen vorhanden ist. Die naßchemische Analyse ist sehr zeitraubend und bedarf großer Einwaagen. Hier liegen die Verhältnisse für die Spektralanalyse etwas anders als beim obigen Beispiel. Eisen ist linienreich und eignet sich nicht als Unterlage für die Abscheidung. Pb ist zwar edler als Fe, aber dies trifft auch noch bei einigen anderen Elementen zu, die im Fe in viel höherer Konzentration vorliegen. Die Spannungsreihe sieht folgendermaßen aus:

Fe/Fe—	—0,44 V	Ni/Ni—	—0,23 V
Cd/Cd—	—0,40 V	Mo/Mo—	—0,2 V
Co/Co—	—0,27 V	Pb/Pb—	—0,126 V

Nach einer Reihe von Vorversuchen haben wir uns entschlossen, Cd als Grundmetall zu verwenden. Es ist nicht linienreich, ergibt gute Niederschläge und das in der Lösung vorhandene Fe stört auch in großen Konzentrationen nicht. Sonderbarerweise wurden auch Co und Ni nie im Niederschlag beobachtet. Dies ist wichtig, denn gerade sie hätten durch ihren Linienreichtum stören können. Dem einzigen Nachteil, der Giftigkeit der Cd-Dämpfe, wird durch ausreichenden Abzug begegnet. Die wesentlichen Arbeiten waren rein empirischer Natur und dienten zur Festlegung geeigneter Bedingungen, um gleichmäßige, festhaftende Niederschläge zu erhalten. Im allgemeinen wurde von 1 g Einwaage ausgegangen, worin bis zu 0,1% Pb enthalten war. Zunächst wurde in 10 ml Salzsäure 1:1 gelöst, ein eventueller Rückstand abfiltriert, aufgeschlossen und nach Auflösung beigefügt. Es hatte sich schon früher als unerlässlich erwiesen, der Lösung Ammoniumchlorid, Na-Acetat, Hydroxylamin und Gelatine zuzusetzen. Nach einigen Reihenversuchen hat sich folgende Zusatzlösung zur Erzielung einwandfreier Niederschläge

als günstig erwiesen: 135 g Ammoniumchlorid; 250 g Natriumacetat; 7 g Hydroxylaminchlorhydrat; 3 g Gelatine auf 500 ml Lösung. 20 ml der Analysenlösung wurden mit 15 ml dieser Zusatzlösung versetzt.

Als Vergleichselement hat sich Sn bewährt. Es wurde jeder Analyse in einer Menge von 0,5 mg als Lösung zugesetzt. Bei der Zementation, die wie früher in Glasgefäßen mit CO_2 -Rührung vorgenommen wurde, wurde das Sn mit dem Pb gleichmäßig abgeschieden. Außerdem war stets Cu im Niederschlag, das jedoch nicht stört, wenn die Fe-Probe nicht mehr als 0,1% davon enthält.

Die Cd-Stäbe, 5 mm Durchmesser, 80 mm lang, waren aus reinstem Material, das selbst weniger als 0,05% Pb enthielt, durch Gießen hergestellt und in Salpetersäure abgeätzt. Die Zementation dauerte 3 Stunden.

Zur Aufnahme haben wir den Hochspannungsfunken eines Feußner-Funkenerzeugers und die beschriebene Drehelektrode mit einer spitzen Kohle als Gegenelektrode verwendet.

Aufnahmebedingungen:

Spektrograph: Fuess 110 M;
Spaltbreite: 0,03 mm;
Objektivblende: offen;
Zwischenabbildung;
Belichtung: 20 sek;
10 Umdrehungen;
Gegenelektrode: Kohle, Ringsdorff 10;
Herzog-Spektralplatte, blau;
Entwickler: Kodak D 19, 8 Minuten bei 18° C.

Als Analysenlinien dienen:

bei 0,1 — 0,003% Pb	Pb 2823,19 gegen Sn 2873,58
bei 0,03 — 0,0001% Pb	Pb 2833,07 gegen Sn 2813,58

Eichkurven wurden mit Hilfe des *Seidelschen* Schwärzungswertes aufgestellt. Im ersten Bereich läßt sich eine Eichkurve mit einer Transformationskonstanten 1, im zweiten mit 2 hinreichend geradlinig darstellen (Abb. 1 und 2). Wollte man noch kleinere Pb-Gehalte (unter 0,0001% erfassen, so müßte man den Bleigehalt der Cd-Elektroden herabsetzen. Selbstverständlich waren alle verwendeten Reagenzien von allen störenden Pb-Mengen befreit und in Kunststoffflaschen aufbewahrt. Das gewöhnliche Glas enthält schon so viel Pb, daß die Reagenzien nach kurzer Zeit darin unbrauchbar wurden. Zu erwähnen ist noch, daß zur Zementation auch Fe-Stäbe verwendet werden können, die elektrolytisch mit Cd überzogen sind, wodurch der Verbrauch an Cd herabgesetzt wird.

Der mittlere Fehler beträgt bei einem Pb-Gehalt von 0,001% etwa $\pm 9\%$ des Analysenwertes.

Die Methode ist demnach für die Analyse von Fe auf Pb in solchen Gebieten geeignet, in denen man ohne Anreicherung nicht mehr spektralanalytisch arbeiten kann (0,001 bis 0,0001%). Bei höheren Pb-Gehalten (bis 0,1%) kann sie bei der Kontrolle von Eichlegierungen wertvolle Dienste leisten.

Zur Ausführung einer einzelnen Analyse benötigt man 5 Stunden; bei Serien liegt die benötigte Zeit wesentlich günstiger.

Zusammenfassung.

Zum quantitativen spektralanalytischen Nachweis von Blei in Eisen bis zu 0,0001% wurde eine Methode ausgearbeitet, bei der das Blei durch innere Elektrolyse auf Cadmium abgeschieden wird. Als Bezugselement wird Zinn verwendet. Zum Abfunken dient eine Drehelektrode. Der mittlere Fehler liegt bei $\pm 9\%$ des Analysenwertes.

Summary.

A method has been worked out for the quantitative spectral analytical detection of lead in which the lead is deposited on cadmium by internal electrolysis. Tin is used as reference element. A rotating electrode serves for sparking off. The mean error lies at $\pm 9\%$ of the analytical value.

Literatur.

- ¹ W. Seith und J. Herrmann, Spectrochim. Acta 1, 548 (1941).

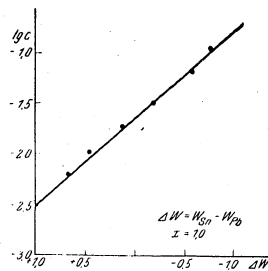


Abb. 1. Eichkurve mit Transformationskonstante 1.

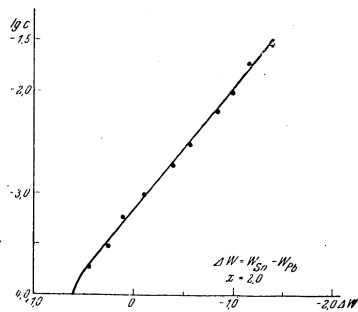


Abb. 2. Eichkurve mit Transformationskonstante 2.

Aus dem Institut für physikalische Chemie der Universität Münster, Westfalen.

Über die Nachweisgrenze in der Spektralanalyse.

Von

Herbert de Laffolie.

Mit 5 Abbildungen.

(Eingelangt am 12. April 1955.)

Ein besonderes Kennzeichen der Spektralanalyse ist die hohe Nachweisempfindlichkeit für die meisten chemischen Elemente. Es ist nun wünschenswert, den Begriff Nachweisempfindlichkeit oder Nachweisgrenze zu präzisieren und durch möglichst zuverlässige Zahlenwerte zu kennzeichnen. Die erste Frage, die dabei auftaucht, lautet: Wodurch tritt überhaupt eine Begrenzung der Nachweisbarkeit einer Spektrallinie auf? Diese Begrenzung tritt dadurch auf, daß die Lichtquelle, z. B. ein Funken oder Bogen, nicht nur die Spektrallinien derjenigen Elemente ausstrahlt, die sich in der Entladung befinden, sondern daß der Linienstrahlung eine kontinuierliche Untergrundstrahlung überlagert ist. Wird die Konzentration eines gesuchten Elementes kleiner und kleiner, dann wird eine herausgegriffene Spektrallinie dieses Elementes um so schwächer, während die Untergrundstrahlung wenigstens annähernd konstant bleibt. Schließlich versinkt die Linie im Untergrund, das betreffende Element ist damit (falls es sich um eine „letzte Linie“ handelt) nicht mehr nachzuweisen, die Konzentration ist unter die Nachweisgrenze gesunken. Diese selbst liegt dann an derjenigen Stelle, an der die Linie gerade noch merklich aus dem Untergrund hervortritt.

Um die Nachweisgrenze möglichst weit herabzusetzen, wählt man von vornherein die Anregung so, daß die Untergrundstrahlung möglichst schwach wird. Diese Abschwächung läßt sich weiters durch Verkleinern der Öffnung des Spektrographenspaltes oder durch Übergang auf einen Spektrographen größerer Dispersion erzielen. Ist auf solche Weise eine Arbeitsvorschrift festgelegt, dann wird für diese Arbeitsvorschrift die Nachweisgrenze nur noch durch die Eigenschaften des Strahlungsempfängers bestimmt. In einem direkt anzeigenden Spektralapparat wie dem Quantometer oder dem Spectro-lecteur automatique bestimmt das Rauschen des Photo-Multipliers in einem Spektralapparat mit photographischer Aufzeichnung des Spektrums die Körnigkeit und Gradation der verwendeten photographischen Emulsion diese Grenze.

Infolge der körnigen Struktur photographischer Emulsionen treten bei kleinen Meßflächen, wie sie bei der Schwärzungsmessung von Spektrallinien verwendet werden, an gleichmäßig belichteten Platten Schwärzungsschwankungen auf, die mit Körnigkeitsstreuung und dem Symbol σS_K bezeichnet werden sollen. Hinzu kommt der Photometrierfehler σS_P , der für die folgenden Betrachtungen so veranschlagt worden ist, daß der Meßfehler an einer von 0 bis 1000 linear geteilten Photometerskala 1 Skalenteil beträgt. Die durch die Körnigkeit und den Photometrierfehler auftretende Streuung der Schwärzung soll mit σS bezeichnet werden.

Die Streuung des Logarithmus einer Strahlungsintensität ist $\sigma Y = \frac{\sigma S}{\gamma}$ worin γ die Steilheit der Schwärzungskurve ist. Dabei zeigt sich sogleich die Bedeutung der Entwicklungszeit. In der Abb. 1 ist $\frac{\sigma S}{\gamma}$ an der Stelle

$S = 0,7$ in Abhängigkeit von der Entwicklungszeit aufgetragen. Das Bild bezieht sich auf Untersuchungen an „Herzog-Spektralplattenblauempfindlich“, die in Kodak D 19 entwickelt worden sind. Diejenige

Entwicklungszeit, bei der die Kurve das Minimum durchläuft, ist offenbar die optimale Entwicklungszeit. Die Abb. 2 zeigt σS in Abhängigkeit von der Schwärzung für optimal entwickelte Herzog-Platten unter

Verwendung einer Meßfläche von $0,025 \text{ mm}^2$. Eine Darstellung von $\frac{\sigma S}{\gamma}$

läßt sich nicht gut übersichtlich und für die Praxis brauchbar bringen, weil γ sich mit der Schwärzung ändert und weiterhin für jede Wellenlänge eine andere Schwärzungskurve gilt. Zweckmäßig operiert man daher nicht mehr mit den Schwärzungen S , sondern transformiert die Schwärzungen und auch die Schwärzungsschwankungen in die *Seidel*-Werte P . Durch die *Seidel*-Transformation wird die Schwärzungskurve in eine Gerade übergeführt. Der Vorteil der Transformation ist, daß im ganzen Schwärzungsbereich γ konstant ist. In der Abb. 3 ist für

verschiedene Transformationskonstanten $\sigma P = \frac{dP}{dS} \sigma S$ in Abhängigkeit

von der Schwärzung aufgetragen. Bei kleinen Schwärzungen ergeben

sich große Werte für σP und damit auch für $\sigma Y = \frac{\sigma P}{\gamma}$. Die Minima

der Kurven zeigen diejenigen Schwärzungen an, bei denen σP den kleinsten Wert hat; diese Schwärzungen sind offenbar die optimalen Schwärzungen. Für die Praxis besser geeignet als die „Optimale Schwärzung“ ist der Begriff des günstigen Schwärzungsbereiches. In der Abb. 4 ist aus den Kurven des vorhergehenden Bildes der „Günstige Bereich 1,2“ in Abhängigkeit von der Transformationskonstanten aufgetragen. Bei Schwärzungsmessungen innerhalb des durch die beiden Kurven begrenzten Bereiches überschreitet σP nicht das 1,2fache seines Wertes bei der optimalen Schwärzung. σP wird innerhalb dieses Bereiches konstant und gleich dem 1,2fachen seines Wertes bei der optimalen Schwärzung gesetzt.

Um von hier aus auf die Nachweisgrenze zu gelangen, ist zu überlegen, wie sich Körnigkeit und Meßfehler bei der Berücksichtigung der Untergrundstrahlung auswirken. Die Rechnung führt zu einer Formel, deren numerische Auswertung die Abb. 5 zeigt. Gemessen werden die durch die Strahlung von Linie und Untergrund gemeinsam erzeugte Schwärzung S_{LU} und neben der Linie die durch die Untergrundstrahlung allein erzeugte Schwärzung S_U . Aus diesen Schwärzungen ergeben sich über die Kennlinie der Photoplatte der Logarithmus der Intensität von Linie + Untergrund Y_{LU} und der Logarithmus der Intensität des Untergrundes Y_U . Abb. 5 zeigt in Abhängigkeit von der Differenz $Y_{LU} - Y_U$ den Faktor, mit dem σY multipliziert werden muß, um die Streuung für den Logarithmus des Intensitätsverhältnisses zweier Spektrallinien zu erhalten. Letztere ist zumeist auch gleich der Streuung in der Konzentration. Für große Werte von $Y_{LU} - Y_U$ (das heißt, die Intensität der Linie ist groß gegen die des Untergrundes) konvergiert der Faktor zu dem Zahlenwert $\sqrt{2}$ (es sind stets zwei Schwärzungsmessungen notwendig, von denen jede die Streuung σY liefert, daher der Faktor $\sqrt{2}$). Wenn Linie und Untergrund intensitätsgleich sind, ist $Y_{LU} - Y_U = 0,3$, der Faktor hat dann den Zahlenwert 2,4. Mit abnehmender Intensität der Linie wird $Y_{LU} - Y_U$ kleiner. Ist $Y_{LU} - Y_U$ schließlich gleich σY geworden, dann ist die Linie von einer zufälligen Schwärzungsschwankung des Untergrundes nicht mehr zu unterscheiden, die Linie ist im Untergrund versunken.

H. Kaiser¹ definiert, daß an der Grenze der Nachweisbarkeit einer Linie $Y_{LU} - Y_U$ den Wert $3 \cdot \sqrt{2} \cdot \sigma Y$ haben soll. Bei einer Wellenlänge von $3750 \text{ \AA}$ ergab sich für die Herzog-Platten ein σY von 0,003. An der Nachweisgrenze ist damit $Y_{LU} - Y_U = 0,013$, das heißt, die Intensität des Untergrundes ist hier rund 30mal so groß wie die der Linie. Für die Streuung der Konzentration an der Nachweisgrenze ergibt sich unabhängig von den Eigenschaften der Emulsion 40%. Durch die Eigenschaften der Emulsion wird aber die Nachweisgrenze selbst festgelegt.

Für einige in der Spektrochemie verwendete Emulsionen hat P. Spiegel-

berg² Messungen von Körnigkeit und Steilheit durchgeführt. Aus den Ergebnissen von P. Spiegelberg sind in der folgenden Tabelle für die Wellenlängen 4300, 3500 und 2800 Å die Verhältnisse von Linienstrahlung zur Untergrundstrahlung I_L/I_U an der Nachweisgrenze berechnet worden. Bei größeren Wellenlängen liegen diese Verhältnisse am günstigsten, weil hier die Kennlinien steil verlaufen. Bei den verschiedenen Emulsionen unterscheiden sich diese Verhältnisse und damit auch die Konzentration an der Nachweisgrenze um mehr als den Faktor 10.

Tabelle.

	4300 Å I_L/I_U	3500 Å I_L/I_U	2800 Å I_L/I_U
Gevaert Super Chromosa ..	1: 13	1: 12	1: 9
Ilford Chromatic	1: 31	1: 18	1: 16
Ilford Ordinary	1: 26	1: 18	1: 14
Kodak SA 2	1: 29	1: 21	1: 17
Agfa Spektral-blau-hart ..	1: 48	1: 29	1: 19
Kodak SA 1	1: 89	1: 48	1: 31
Ilford Process	1: 71	1: 47	1: 33
Ilford Thin Film Half Tone	1: 145	1: 64	1: 30

Um für eine gegebene Arbeitsvorschrift die Nachweisgrenze zu berechnen, ist mit chemisch analysierten Proben höherer Konzentration eine auf den Untergrund bezogene Eichkurve aufzustellen und diese bis zu dem Logarithmus desjenigen Intensitätsverhältnisses I_L/I_U zu extrapolieren, das durch die Eigenschaften der verwendeten Emulsion festgelegt ist.

Je härter und je feinkörniger eine Emulsion ist, bei einem um so kleineren Verhältnis I_L/I_U liegt die Nachweisgrenze. Die harten, feinkörnigen Emulsionen sind aber zugleich auch wenig empfindlich. Die Wahl einer solchen Emulsion ist daher nur dann sinnvoll, wenn für die Analyse etwas größere Substanzmengen zur Verfügung stehen, wie es meist dann der Fall ist, wenn der Spektralanalyse keine chemische Anreicherung vorausgeht. Geht eine chemische Anreicherung voraus, dann beträgt die gesamte für die Spektralanalyse zur Verfügung stehende Substanzmenge häufig nur Bruchteile eines Milligramm, die in wenigen Sekunden verdampft sind. In diesem Fall muß man zu empfindlicheren und damit grobkörnigen und weichen Emulsionen greifen.

Zusammenfassung.

Der Nachweisbarkeit einer Spektrallinie ist dadurch eine Grenze gesetzt, daß der von der Lichtquelle ausgehenden Linienstrahlung eine kontinuierliche Untergrundstrahlung überlagert ist. Mit abnehmender Intensität einer Spektrallinie versinkt diese schließlich im Untergrund. Die Stelle, an der eine Linie im Untergrund versinkt, ist maßgeblich durch die Eigenschaften der verwendeten Emulsion gegeben, und zwar durch die Körnigkeitsstreuung und die Gradation. Unter Verwendung der Seidel-Transformation wird gezeigt, wie sich aus Körnigkeitsstreuung und Gradation dasjenige Intensitätsverhältnis von Linie zu Untergrund bestimmen läßt, bei dem die Linie gerade noch merklich aus dem Untergrund hervortritt. Dieses Verhältnis wird für einige häufig verwendete Emulsionen zahlenmäßig angegeben.

Summary.

A limit is set for the detectability of a spectral line by the fact that the line radiation issuing from the light source is overlain by a continuous background radiation. With decreasing intensity of a spectral line, this eventually sinks into the background. The point at which a line sinks into the background is determined basically by the characteristics of the emulsion used and in fact by the granularity distribution and the gradation. By using the Seidel transformation it is shown how granularity distribution and gradation can be employed to determine the relation of intensity of line and background at which the line is just still emerging from the background. This relation is given numerically for several emulsions that are frequently used.

Literatur.

- ¹ H. Kaiser, Spectrochim. Acta **3**, 40 (1947).
- ² P. Spiegelberg, Jernkon. Ann. Årg. **131**, 181 (1947).

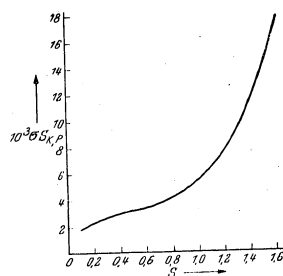


Abb. 2. Mörigkeits- und Messfehler.

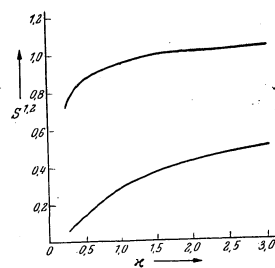


Abb. 4. Günstiger Bereich 1,2

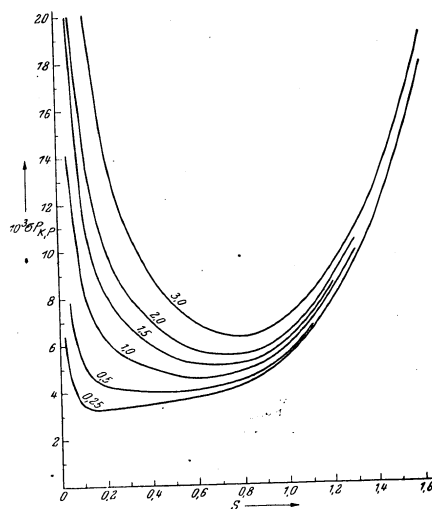


Abb. 3. Streuung von P durch Körnigkeit und Messfehler.

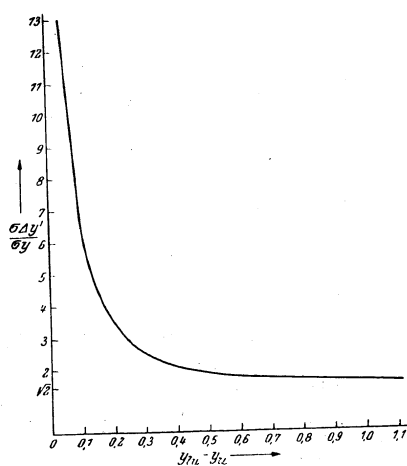


Abb. 5. Fehler bei der Untergrundkorrektur.

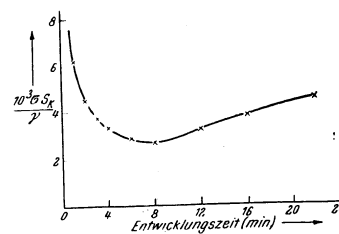


Abb. 1. Zur optimalen Entwicklungszeit.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/44.

Zeilenanzahl: 764.

Department of Chemistry, University of Birmingham, England.

A Simple Robust Ultramicrobalance.

By

H. Asbury, R. Belcher and T. S. West.

With 13 Figures.

(Received April 12, 1955.)

Several balances are available commercially which can be used for weighing ultramicro quantities of material. In the course of an investigation in which extremely small amounts of material had to be analysed; such a balance was required, but the cost was prohibitive. Accordingly, a suitable balance was designed and constructed. The simple construction and robust nature of this balance should be of general interest.

Historical.

In 1841, *Weber*¹ constructed a beam microbalance of the elastic filament type, using thin metal strips for the purpose. A fused quartz beam was employed by *Steele* and *Grant*² in 1909. This latter balance used the familiar knife edge as a pivot, but silica suspension fibres were used for the scale pans. *Pettersson*³ subsequently modified the latter balance by suspending the beam itself from vertical silica fibres. This balance detected a mass difference of 10⁻⁶g under a load of 20 mg. Naturally such small differences in weight could not be measured by the use of a series of conventional type weights, and other means of measurement had to be employed. *Pettersson*, and *Steele* and *Grant* used buoyancy bulbs and variable air pressure for this purpose, but such a device is clumsy and is not suited to weighing materials which may lose weight under partial vacuum.

In 1901, *Salvioni*⁴ constructed a displacement type balance consisting of a glass thread fixed rigidly at one end and carrying a minute scale-pan near the other end. The deflection of the free end of the thread under various loads was measured by means of a travelling microscope. The original balance was suitable for microanalytical determinations, but other workers subsequently evolved much more sensitive balances of the same type. It was on a *Salvioni* type of balance that *Cunningham* and *Werner*⁵ weighed the first amounts of plutonium to be isolated.

In 1903 *Nernst* and *Riesenfeld*⁶ devised a torsion displacement balance using a fused quartz beam cemented at right angles to a horizontal torsion fibre. One end of the beam carried the scale-pan attached to a fine suspension fibre, whilst the other carried a quartz counterpoise and a pointer moving over a graduated scale. The displacement of the pointer was proportional to the load placed on the scale-pan. The original *Nernst* balance had a total load capacity of 2 mg, and a sensitivity of 2 μ g was obtained by using a cathetometer to observe the movement of the pointer. Modifications by *Riesenfeld* and *Moeller*⁷, and by *Emich* and *Donau*⁸ increased the load capacity to 15 mg, and the sensitivity to 0.1 μ g. The *Nernst* balance was examined by *Steele* and *Grant*, but they preferred to evolve a knife-edge balance, because they failed to obtain sufficiently reproducible weighings with the former.

One of the most notable contributions to the evolution of a simple yet accurate balance was made fairly recently by *Neher*⁹ when he introduced the application of variable torque to the quartz beam by a torsion fibre. The angle of rotation of the free end of the torsion fibre necessary to restore the beam under load to a predetermined zero position was directly proportional to the load. *Neher*'s balance had a sensitivity of ca. 0.001 μ g with a load capacity of 1 mg.

Kirk, *Craig*, *Gullberg*, and *Boyer*¹⁰ used various features from the balances of *Steele* and *Grant*, *Pettersson*, and *Neher* in designing an instrument more suited to ultramicro analytical work. In this balance a fused quartz rod beam of cantilever construction was mounted on a quartz torsion fibre. The free end of this fibre was attached to a calibrated torsion head. Constant tension on the torsion fibre was achieved by inserting a flexible quartz bow at the other end of the torsion fibre. The amount of torsion necessary to restore the beam to its original position was read from the calibrated dial.

In 1950, *Wilson* and *El-Badry*¹¹ described an ingenious method for the

construction of a *Kirk-Craig* type balance. The beam of the *Kirk-Craig* balance was made entirely of fused quartz, all the joints being made by fusion of the various members. This rather delicate operation was achieved by using a special jig assembly to hold the fibres in place. The balance devised by *Wilson* and *El-Badry* differed only in minor details from that of *Kirk, Craig* and co-workers, except that an entirely new method was used in assembling the beam. The construction of a fused beam requires complicated manipulation and strict cleanliness, because contamination of the quartz with foreign material of any kind leads to the formation of brittle joints. *Wilson* and *El-Badry* simplified the construction of this type of balance greatly by showing that the beam could be joined together very simply with an organic water-repellent adhesive such as "Durofix". The joints thus obtained were strong and neat, being almost invisible to the eye. The beam assembled by this method was rigid and could survive relatively rough treatment.

*Carmichael*¹² subsequently described the design and performance of a fused silica microbalance in which the beam was essentially similar to those used by *Kirk, Craig* and co-workers and by *Wilson* and *El-Badry*. Various refinements in construction were made, but the most notable feature of its construction was the use of a metal block (channeled to hold the various moving parts) to house the whole beam assembly. By this device the undesirable effects introduced through thermal convection (caused by temperature differences in the large volume of air enclosed in the cases of earlier balances) were avoided.

The total load capacity of most of the balances already described is rather limited, but quartz fibre balances of the suspension-torsion type have a much larger load capacity. Thus the *Garner* microbalance has a load capacity from 0.6 to 5.0 g and a sensitivity of 10^{-9} g. The remarkable load capacity and sensitivity of this balance make it a very suitable instrument for determining minute changes in the weight of heavy objects, cf. *Kuck, Altieri* and *Towne*¹³. On the other hand, it has been observed by *Cunningham*¹⁴ that the design of the instrument could be improved to eliminate a pronounced tendency for zero-drift to occur. It is certainly the case that much more stringent conditions are necessary to protect it from environmental sources of disturbance than those which are necessary for use of the *Wilson-El-Badry, Kirk-Craig* and *Cunningham* types of balance. Another feature in which the *Garner* balance differs markedly from the others is in the large inertia of the loaded balance. This is overcome by manual damping, but it adds considerably to the time necessary to establish equilibrium conditions. It should be emphasized, however, that these limitations of the *Garner* balance are more than offset when it is necessary to weigh a heavy object, for none of the other balances can be used for this purpose.

Formulae relating the performance of the difference types of quartz fibre balance to various parameters of the system have been evolved by *Cunningham*¹⁴.

Construction of the Ultramicrobalance.

For the construction of the balance described subsequently in this paper, it was decided to retain the simple manner of assembly of the *Wilson-El-Badry* model, whilst incorporating some of the refinements present in the relatively much more expensive and complicated balances evolved by other workers.

(1) Construction of the Quartz-fibre Beam.

The beam system finally chosen by us differs only slightly from that used by *Wilson* and *El-Badry* and by *Kirk, Craig* and co-workers. The cantilever beam Fig. 1 consists essentially of a stout horizontal member *AB* of $200\ \mu$, bisected by a similar main vertical member *CDN* at right angles to it and joined to it by two $70\text{-}\mu$ struts *CP* and *CK*. These struts continue beyond the junctures with the main horizontal member and meet the two $70\text{-}\mu$ side vertical members *HA* and *MB* at *L* and *S*. The $25\ \mu$ index fibre *HM* is stretched over the top of these side vertical members. The points *K* and *P* where the strut fibres meet the horizontal of the beam form the points of attachment of the scale-pan suspension fibres. The $200\text{-}\mu$ lesser horizontal member *EF* is mounted horizontally on *CD* and bisecting it. The main vertical member of the beam projects below *AB* to an extent *DN* which is of variable length. The dimensions of the various members are given in Table 1.

Assembly of Beam Unit.

The manner of assembly is that due to *Wilson* and *El-Badry*. The details of the beam were carefully drawn out on good quality black

Table I.

	Diameter (μ)	Length (Inches)
Main Horizontal <i>AB</i> . . .	200	4.2
Lesser Horizontal <i>EF</i> . . .	200	0.38
Index Fibre <i>HM</i>	25	4.2
Struts <i>CL, CS</i>	70	—
Main Vertical <i>CD</i>	200	0.4
Side Verticals <i>AH, BM</i> . . .	70	0.5
Spacing <i>KD, DP</i>	—	2.0
Spacing <i>CO</i>	—	0.2
Spacing <i>DN</i>	—	ca. 0.5
Suspension Fibre <i>KR</i> . . .	5	1.2

1 Inch = 25.399 mm.

drawing paper in pencil. The pencil lines of the drawing were extrapolated beyond the various points of juncture for an indefinite distance of the order of -2 inches as circumstances required. This plan was left pinned to the drawing board and a plate of 2 to 3 mm thick glass was superimposed on it and also clamped to the board. At various points along the extrapolated lines of the drawing, as seen through the glass, small sections of microscope slide were glued to the glass plate with Durofix adhesive (see Fig. 2). When the latter had set in position, a small drop of Durofix was placed on the two microscope slide sections covering the extensions of *AB* and a 200 μ quartz fibre was carefully placed in position on the two supports and maintained there until the adhesive had set. The main vertical fibre *CD* was then passed underneath *AB* and likewise secured in position on the appropriate slide sections with a small amount of adhesive. The intersection of the two fibres at *D* was made into a firm joint by applying a small amount of solution of adhesive (one volume of Durofix in 5 volumes of amyl acetate) to the point of intersection. When the first application of dilute adhesive had dried, another was made until the joint was quite firm. The diluted adhesive was best applied with a short length of 100-to 200- μ quartz fibre let into a length of glass tubing and cemented to it with Durofix. This formed a very convenient tool, not only for applying small droplets of adhesive, but also for adjusting the various fibres accurately into position.

When this joint was firm the struts *CL* and *CS* were positioned carefully, passing over the main vertical and under the main horizontal. The joints at *C*, *K* and *P* were carefully made. After these had set, the side vertical members were laid under the main horizontal *AB* and over the struts at *L* and *S*. The joints at *A*, *B*, *L* and *S* were carefully made with dilute adhesive. The lesser horizontal member was set in position carefully over the other fibres and the joint with the main vertical, *CD* was made at *O*. This was done by repeated additions of adhesive to the upper side of the junction of *EF* and *CD* (i. e. the side nearest *C*). The lower side of the junction (i. e. that facing *D*) was kept as free of adhesive as possible. In this case it was found preferable to use undiluted Durofix after the first preliminary joint had been made with dilute adhesive. When dilute adhesive was used, it spread round all sides of the joint so that when the beam was subsequently mounted on the torsion system and fixed in position, the joint at *O* was weakened by the further addition of adhesive.

The extensions of the brace fibres beyond the beam were cut-off near to *C* by use of a pair of fine tipped manicure scissors, and also the upper extensions of the main vertical member. The index fibre was then stretched over the appropriate slips of microscope slide and fixed firmly to them, after which the joints at *H* and *M* were made with dilute adhesive. The index fibre should pass over the side vertical members. The extensions of the index fibre were cut off and those of the struts below the beam and also the extensions of the side vertical members below the beam. The extensions of the lesser horizontal member beyond *E* and *F* were cut off using the manicure scissors. If the joint at *O* has

been firmly made there is no difficulty in this operation even though the fibre is robust. This leaves the beam unit complete, but still attached to the assembly plate by the upper extensions of the side vertical members, those of the main horizontal member and the lower extension of the main vertical member. The beam unit should be left thus till required for assembly of the entire quartz system.

(2) *Construction of the Torsion System and Constant Tension Bow.*

The torsion system consists essentially of two short 200- μ quartz axle rods *AE* and *FB* at either end with a similar piece *CD* near the middle. The front torsion fibre (20 μ) *DF* is slightly longer than the rear torsion fibre *CE*. The 200- μ rods at either end serve as axles for loading the torsion system into the balance block, whilst the centre rod *CD* carries the beam unit. The constant tension bow *GHKI* is constructed of 120- μ quartz fibres. It is mounted near the forward end of *AE* so that the line of *AE* bisects that of *GH*. When it has been fixed in position, the part of *AE* between *GH* and *IK* is cut out or it can simply be broken by cutting with manicure scissors. The various dimensions are shown in Table II.

Table II.

	Diameter (μ)	Length (Inches)
Axle Rod <i>AE</i>	200	0.4
Axle Rod <i>FB</i>	200	0.2
Central Rod <i>CD</i>	200	0.4
Rear Torsion Fibre <i>EC</i> ..	20	2.6
Front Torsion Fibre <i>DF</i>	20	3.0
Long members of Bow <i>GH, IK</i>	120	0.8
Short members of Bow <i>GI, HK</i>	120	0.1

Assembly of Torsion Unit.

The details of the torsion unit as described above were carefully drawn out on the same sheet of black drawing paper as was used for the beam unit. The position of the quartz bow was carefully outlined and the lines of its construction were extrapolated as described previously. Sections of microscope slide were fixed in position at short distances beyond the unit along the extended lines as seen through the glass plate. In addition a thin section of microscope slide was situated on the glass plate over the middle of the central member *CD*.

The main 200- μ horizontal member *AB* was laid and fixed in position not only at both ends, but also in the middle (using dilute adhesive here). The long members of the quartz bow were laid over the main horizontal member and fixed firmly in place. Dilute adhesive was added to make firm joints at the points of contact of *GH* and *IK* with *AE*. The shorter members of the quartz bow were laid passing over one of the long members and under the other. The joints *G, H, K, I* were formed with dilute adhesive. The main horizontal fibre was cut at *F, D, C* and *E* and between *IK* and *GH*. A droplet of dilute adhesive was placed on *F, D, C* and *E*. The torsion fibre was then stretched along the length of *AB* and pressed into position at *E, C, D* and *F* with the point of a steel needle. After the adhesive had set at these points, the extensions were cut off. The extensions of the fibres of the quartz bow were cut, leaving the torsion system attached to the glass plate by the extensions of *EA, FB* and by the glass slip between *C* and *D*. The torsion fibre was led into position between two tags of adhesive paper as described by Wilson and El-Badry¹¹.

(3) *Construction of Scale-pan Cradles.*

The scale-pan cradles *ABCDE* are of the conventional type, being constructed entirely of 110- μ fibres. The platinum scale pans rest on the base *FGHI* which is mounted on *ED* at right angles to the plane of *ABCDE*. Two scale-pan units are, of course, required, one for each side

of the beam. The dimensions of the various members are given in Table III.

Table III.

	Diameter (μ)	Length (Inches)
Side Members $AE, CD \dots$	110	0.6
Base $ED \dots \dots \dots$	110	0.4
Shoulders $AB, BC \dots \dots$	110	0.2
Sides of Scale Pan Support $FGHI \dots \dots \dots$	110	0.3

Assembly of Scale-pan Cradles.

The details of the scale-pan cradles were drawn out carefully on the same sheet of black paper as was used for the beam unit and torsion unit, extrapolating the various lines of the drawing.

Sections of microscope slide were fixed to the glass plate over the extrapolated lines of the drawing as shown. The horizontal fibres $EAA'E'$ and $DC C'D'$ were first laid carefully over the lines of the drawing and fixed to the appropriate microscope slides, with dilute adhesive. The base members ED and $E'D'$ were similarly placed in position over one horizontal fibre and under the other. The joints at E, D, E' and D' were made with dilute adhesive. The shoulder fibres $AB, A'B', CB$ and $C'B'$ were then laid over one horizontal fibre and under the other, and the joints were made at A, B, C, A', B' and C' in the usual way. The scale-pan supports were made by laying the $FIF'I'$ and $GHG'H'$ fibres and passing the cross members FG, FG', IH and $I'H'$ over the other fibres in all four cases. The corner joints were then made as usual by repeated addition of dilute adhesive from the end of a quartz needle.

When these operations had been completed, the extensions of the various fibres were cut off except that each scale-pan base was left with one extension fibre intact. Similarly, each scale-pan stirrup was left with one long arm AA' or CC intact.

After having removed the stirrup $ABCDE$ from the board, it was fixed to a microscope slide by the extended fibre AA' using Durofix. It was then clamped vertically by the microscope slide so that the base ED rested on the surface of another glass plate. The scale-pan base $FGHI$ was likewise clamped in a horizontal position after fixing the extension to a microscope slide. Its position was adjusted by careful manipulation until it rested on ED midway between these two points, with the line of ED bisecting two opposite sides of the square. Joints were made with dilute adhesive at the points of contact, taking care that the plane of $FGHI$ was at right angles to that of $ABCDE$. The extension of the arm of $FGHI$ was then cut off as near to the square as possible. The other scale-pan cradle was similarly completed. The extensions of the scale-pan cradles were then removed by use of the manicure scissors.

Attaching the Scale-pan Cradles to the Beam.

The length of the $5\text{-}\mu$ suspension fibre KR (Fig. 1) is 1.2 inches. To attach each scale-pan cradle to the beam, a length of $5\text{-}\mu$ fibre ca. 4 to 5 inches in length was handled between two tags of gummed paper. The scale-pan cradle was placed resting on its base in an upright position on a glass surface and a drop of dilute adhesive was placed at B on the junction of the shoulder fibres, AB and BC . The $5\text{-}\mu$ fibre was then wound round this junction once so that adequate contact was made with the droplet of adhesive. The scale-pan cradle was supported by the free end of the fibre whilst the adhesive at B dried. The other unit was treated similarly. The apex of the unit (B) was then placed over the appropriate point on the Plan (Fig. 2) by laying the scale-pan cradle horizontally on the glass plate. The free end of the fibre was then led over the beam and pressed into a droplet of adhesive placed at the point of suspension (K and P , Fig. 1), by using the tip of a steel needle. When the adhesive had set, another droplet of dilute adhesive was placed a short distance along KD from K (Fig. 1) and the $5\text{-}\mu$ fibre was again pressed into this

by using the steel needle. After this droplet of adhesive had set, the tail ends of the 5- μ fibre were removed by use of the scissors. The other scale-pan cradle was similarly attached to the other side of the beam by means of a 5- μ quartz fibre.

Final Assembly of Quartz System.

The torsion system (Fig. 3) was removed from the glass assembly plate (Fig. 2) by loosening the adhesive, holding it to the microscope slide sections, with amyl acetate. The ends of the axles *EA* and *FB* were then pushed into the brass nipples and fixed there by squeezing Durofix into the nipple. When the adhesive had set, the nipples were loaded into the spindles of the balance block and fixed into position by tightening the grub screws. The variable tension screw at the rear of the balance block was adjusted so that only a very small sag occurred in the centre of the torsion system. The beam unit was then removed from the assembly plate by cutting the remaining fibres with the manicure scissors. The nipple in the torsion spindle of the balance was taken out and laid on the balance block behind the slot for the beam. The beam unit, handled by forceps, was placed carefully in its channel so that it rested against one side with the scale-pan cradles hanging down on each side into the shafts drilled for them in the block. The free nipple carrying the front axle *FB* and torsion fibre *DF* (Fig. 3) was then carefully passed through the angle *DCS* (Fig. 1) formed by the strut and main vertical member of the beam, and it was inserted in the torsion head and secured there by tightening the grub screw. The beam unit was lifted so that the lesser horizontal member *EOF* (Fig. 1) rested on the central part of the torsion system, i. e. *CD* (Fig. 3), and so that the torsion member *CD* rested as close up against *O* (Fig. 1) as possible. The beam unit was farther positioned along *CD* so that the scale-pan cradles hung as near as possible to the centre of the scale-pan cradle shafts in the block. The beam itself was maintained vertically in this position by supporting between microscope slides clamped vertically from retort stands. A strong joint was then made at the point of contact of the beam with the torsion system by applying Durofix adhesive (undiluted) at this junction. When the adhesive had set, the supporting microscope slides were removed.

Attaching the Platinum Scale-pans.

Two circular platinum scale-pans, 0.4 inch in diameter, were cut out from ca. 0.0003 inch thick platinum foil, by means of a circular stamp. These were weighed on a microbalance and their weight was adjusted as closely as possible by trimming their edges with a pair of fine tipped manicure scissors (or by dipping into aqua regia, etc. to reduce the weight). A small drop of dilute adhesive was placed on the underside of each scale-pan and these were then placed on the square bases of the scale-pan cradles. The adhesive was allowed to dry. The right hand scale-pan was then counterpoised, or its edge was trimmed with manicure scissors till the beam appeared to rest in a roughly horizontal position as far as the eye could judge.

The lights of the optical system were switched on and the objectives were focused on either end of the index fibre by means of the lateral and vertical adjustments on the holders carrying the objectives. When this had been achieved, vertical adjustment of the two objectives was made so that they lay in the same horizontal plane. The top of the balance was placed in position and the weight of the right hand scale pan was then increased or decreased carefully so that the two halves of the index fibre in the field of view of the eyepiece of the optical system lay in roughly the same straight line, with the calibrated torsion head at the zero position. The dial of the torsion head was then rotated till the two parts of the index fibre, viewed through the optical system, were collinear. The reading on the dial then gave the zero point of the balance.

Construction of the Quartz Fibres.

Uniform lengths of quartz fibre were drawn by hand from 4-mm

clear fused quartz rod using an oxygen coal gas flame. By this method it was found possible to draw quite uniform fibres of various diameters from 200 to 70 μ . Fibres of the necessary uniform diameter were selected after measurement with the calibrated ocular scale of a microscope. A suitable length for each fibre is 8 to 9 inches. The selected lengths of fibre were mounted on a stiff sheet of white cardboard by fixing down each end with a small piece of gummed paper. The exact diameter was recorded at either end of the fibre. Cards containing 200- μ , 120- μ , 110- μ , and 70- μ fibres were prepared and stored in a suitable box till required for assembly of the quartz system.

The finer fibres viz. 25- μ , 20- μ and 5- μ were flame blown as described by *Neher and Strong*⁹. These fibres were measured as described above, and were stored by mounting between two bars of a metal rack, fixing each end of the fibre down with Durofix adhesive. Separate racks of each size of fibre were prepared in this way. Whereas the 70- to 200- μ fibres were readily visible and sufficiently rigid to be handled easily, the 5- to 25- μ fibres were more difficult to manipulate. Before detaching such a fibre from the rack, slips of gummed paper were affixed at either end. The fibre was then cut free and easily handled and positioned by means of the paper tags at either end.

Mechanical Parts.

Fig. 6.

As mentioned previously, the beam of this balance does not swing in a case containing a large volume of air. The moving parts of the balance are housed in channels cut out of a solid block of aluminium alloy (Dural). The torsion fibre is situated in the main longitudinal channel between the torsion head drive and the constant tension device at the rear of the balance block. At the front end of the transverse channel which houses the beam of the balance, are mounted the objectives of the eye-piece comparator. These are mounted so that they are focused on the index fibre of the beam. The index fibre is illuminated separately on either side. The light from two 2.2-v spot bulbs (mounted in series in two special pull out bulb holders situated at the rear of the balance on either side of the constant tension adjusting screw), passes along through two perspex rods (shown as dotted lines in Fig. 6) which terminate flush with the rear side of the beam channel and thence by the mirror systems the two ends of the index fibre are illuminated. The scale-pans are housed in the shafts on either side of the balance, and can be loaded by opening the semicircular doors of the scale-pan shafts. To facilitate loading of the scale-pans, two round ended brass rods are raised under the pans till these rest securely on the ends of the rods. The scale-pans can then be loaded easily. The two brass rods are raised and lowered by operating the small control knob situated on the front of the balance immediately below the dial of the torsion head. Whilst the balance is not in use, these brass supports are raised so that the scale-pans rest on them.

The electric current supply for the two 2.2-v bulbs is obtained from the mains through a suitable transformer. The transformer is mounted well away from the balance to eliminate any undesirable effects such as heat, vibration and generation of static charges. The block of the balance is earthed to minimise and help disperse any tendency for static charge to be generated or picked up. Mounted in the removable wedge shaped top of the balance is a silica-gel drying disc. This is maintained in position by means of a split steel ring. Its purpose is to maintain a reasonably dry atmosphere within the relatively small volume of air contained by the various channels of the balance block, in order to prevent an unduly moist atmosphere from upsetting conditions within the balance case. Where a reasonably constant humidity is maintained in the laboratory its use is not necessary.

The eye-piece comparator used for the optical system of the balance was obtained from Messrs. Beck, London (No. 3259). It has a magnification of $\times 5$. The $\frac{2}{3}$ " microscope objectives used in conjunction with it have a $\times 10$ magnification. The eye-piece comparator was mounted rigidly in the block at an angle of ca. 60°. The images from the two

objectives were reflected into the eye-piece comparator by means of two front-silvered mirrors let into the block at a convenient angle. The revolution counter was situated on top of the balance case immediately behind the eye-piece of the instrument, and was connected to the torsion drive by means of the gearing system shown in Fig. 11.

A brief explanation of the various units is given below.

The Tension Adjustment.

The tension adjustment device serves to alter the sag of the torsion fibre so that the index fibre of the beam lies in the middle of the field of view through the optical system of the balance. The whole mechanism is clamped rigidly into the balance block between *A* and *B*. The rear axle of the torsion fibre is cemented into the drilled nipple *E* which is loaded into the movable cylinder *D* and secured there by the grub screw *F*. Lateral movement of the latter is obtained by turning the spring loaded screw *H*, whilst the pin *G*, moving in the slot of *A*, prevents any circular motion of the torsion system when adjustments are made.

The Objectives.

Fig. 8 shows the side and front views of one of the mounts carrying the objective *A*. The mount *B* is fixed rigidly to the balance block by a bolt passing through a hole drilled in it. The objective *A* is screwed into a hollow tube *C*. This tube is attached to the stirrup *D* through the axle screw *E*. Turning this screw allows horizontal movement of the objective so that it may be focused on the index fibre. Vertical adjustment of the objective is obtained by turning the milled nut *F*. This raises or lowers the stirrup *D* which carries the objective tube *C*. The spring loaded shaft *G* passing through a hole drilled in the mount *B* prevents angular motion of the objective whilst adjustments are made.

The Doors of the Balance.

Little need be said of this unit as its functioning is fairly obvious. Fig. 9 (1) shows the front view of the unit with the door *B* cut out of the side of the tube *C* which fits into the shaft of the block. The unit is mounted on the base of the block by the ring pivot *E*. The scale-pan arresting rods rise and fall through this ring. A slot cut in the milled edge of the base *A* and an arresting pin *D* allow the door *B* to be opened fully and closed fully when *A* is rotated as far as possible in either direction. The door *B* is approximately 0.6×1.5 inches in size.

The Pan Arrest Mechanism.

The manner of action of the pan arresting mechanism is shown diagrammatically in Fig. 10. The pan arresting rods are raised and lowered by the operation of the cam *A* through its action on the levers hinged at the points *C*. The cam is operated by the knob situated on the front of the balance block immediately below the torsion scale. This can best be seen from the photograph of the balance (Fig. 11).

The Torsion Head and Revolution Counter.

The front end of the torsion fibre is actuated by turning the dial of the torsion head. The motion is geared down by the insertion of a commercial "Muirhead" $\frac{20}{1}$ reduction drive between the spindle which turns the torsion fibre, and the knob where torsion is applied. Thus for every 20 revolutions of the knob of the torsion head, the fibre is turned through 360° . The revolution counter *B* (Fig. 11) is connected to the spindle carrying the torsion fibre by the gearing system outlined in Fig. 11 so that a final spindle to counter ratio of $\frac{1}{1}$ is obtained. The scale, *C* of the counter is mounted level with the surface of the top of the block immediately behind the eye-piece comparator. As mentioned previously the graduated scale of the torsion head is divided into fifty divisions. Thus one revolution on the counter is equivalent to 50 scale divisions and 18° rotation of the torsion fibre.

The Block of the Balance.

As mentioned previously, the block of the balance is made of hard aluminium alloy (Dural). The channels carved out of this block to house the moving parts of the quartz beam and the various mechanical units of the balance are sprayed with a dull black paint to minimise reflection of light inside the channels from bright metal surfaces. The channels carrying the beam and the torsion fibre have a depth of 1.2 inch and a width of 0.6 inch and at their narrowest points. The wedge shaped removable top of the balance is also slightly carved out to allow for housing the objective stirrup units, and to allow for generous tilting of the beam. The details of the metal block and removable top of the balance can best be seen from Fig. 13. Small projections on the top part fit into holes drilled in the main block so that the top is always positioned correctly on replacement.

Operation of the Balance.

The balance should be allowed to settle down to equilibrium for a few hours or preferably overnight on any occasion after having removed the wedge shaped top of the case. Removal of the top of the case should only be effected when it is absolutely necessary. The electrical supply should be switched on first and the door of the scale-pan well should be opened briefly for a few seconds. The beam should then be released gently by rotating the small knob below the dial on the front of the instrument. The two ends of the index fibre will then be observed to swing freely when viewed through the eye-piece of the balance. In practice it was found useful to distinguish between the two ends of the fibre by inserting a disc of transparent green paper between the bulb and perspex rod on the right hand side and a disc of red paper on the other side. In this way the two halves of the field of view are coloured red and green and the left hand fibre moves over a red field of view whilst the other moves over a green field. The lens tube of the eye-piece of the balance is adjusted so that the ends of the two images of the fibre overlap whilst still remaining sharply in focus and the calibrated dial is rotated till the two images are exactly collinear. The reading on the revolution counter and the calibrated scale is taken on the zero-point for the weighing. The beam is then arrested.

The door of the left hand scale-pan well is opened and the object to be weighed is carefully deposited on the surface of the scale-pan using fine tipped forceps for the transference operation. The forceps are connected by wire to an efficient earthing strip to disperse any charges which might be transferred from the operator to the balance. This operation is completed as quickly as possible and the door of the scale-pan well is closed. The beam is released and the dial of the torsion head rapidly rotated in a clockwise direction till the two images of the fibre appear within the field of view. The torsion head is then rotated gently till the images of the index fibre are once more collinear. Several readings are taken over a period of 2 to 3 minutes. When a relatively heavy object is being weighed it is generally found that equilibrium is established by the time sufficient torsion has been applied whilst with a lighter object it is not obtained till the 3rd or 4th reading. The difference between the scale reading and the zero reading gives the angle of torsion equivalent to the weight of the object. The angle of torsion is simply multiplied by the calibration factor for the beam to obtain the true weight of the object, in terms of micrograms.

Calibration of the Balance.

A length of fine platinum wire was chopped into short lengths and the total weight of all the pieces of wire was found by weighing carefully on a microbalance. Each piece of wire was then placed on the left-hand scale-pan and the angular deflection produced by it was measured by the torsion head. When all the pieces had been weighed in this way, the sum of the deflections was equated to the total weight of platinum as found by the microbalance. The details of a calibration are shown in

Table IV. The results shown in column 2 of the table are given in terms of revolutions of the dial and divisions of the same. The scale of the dial was divided into 50 divisions.

Table IV.

Platinum Wire No.	Angle of Torsion	
1	414 revs. 36 divs.	
2	391 " 17 "	Total Weight of Platinum
3	234 " 34 "	Wire = 6.27 mg.
4	428 " 8 "	
5	351 " 9 "	Angle of Torsion
6	366 " 7 "	equivalent to 6.27 =
7	351 " 44 "	4033 revs. + 308 Scale Div.
8	316 " 5 "	∴ Sensitivity per Scale
9	216 " 25 "	Division (i. e. Calibration
10	445 " 47 "	factor) = 6270 =
11	198 " 45 "	201.958
12	323 " 31 "	0.03104 μg.

Weighing out a Sample for Analysis.

Chemicals are best weighed on the ultramicrobalance by the difference method. A small boat shaped container which can readily be handled by the flattened portion at either end can readily be made from 0.0003 inch thick platinum foil. A suitable boat about 0.2 inch long with a 0.08 flattened portion (for handling) at either end, about 0.6 to 0.8 inches wide and 0.08 to 0.1 inches deep has a weight of approximately 10 to 12 mg. Since such a load difference is well beyond the torsion restoration capacity of the quartz torsion fibre it is necessary to use a piece of platinum foil of approximately the same weight as a tare. The weight of the tare may be adjusted finely by dipping the platinum foil into a solution of aqua regia. Tub-shaped platinum weighing vessels prepared by forming round the end of a thin glass rod were also readily made and used.

The platinum weighing vessel is placed on a circular aluminium block and the powder or crystals to be weighed are transferred to the weighing vessel by means of a micro spatula consisting of a thin strip of platinum foil sealed into the end of a short piece of glass tubing. The weighing vessel containing the sample is then placed on the left-hand scale-pan of the balance, the door of the pan well is closed, the beam is released and the torsion head is rotated till the images of the index fibre in the eye-piece become collinear. The revolution counter and torsion dial readings are then noted and the beam is arrested. The weighing vessel is next removed from the balance and is reweighed after tipping the sample into the reaction vessel. The difference between the two balance readings is then multiplied by the calibration factor for the beam to give the weight of the sample in micrograms.

Precision of Weighing.

Some idea of the precision of weighing obtainable with the balance described may be obtained from the following experimental details. In these experiments a circular piece of quartz fibre was weighed repeatedly on the microbalance. The zero reading was taken and the quartz fibre was placed carefully on the scale-pan.

The beam was brought into equilibrium by rotating the torsion head and the reading of the balance was recorded in terms of revolutions and scale divisions (Column 3 of Table V). The beam was then arrested temporarily, released again and the torsion head was turned back to the original zero reading. The beam was once more arrested temporarily, then released. The torsion head was again rotated till the images in the eye-piece became collinear, when the scale readings were recorded. This series of operations was carried out till ten sets of scale readings had been obtained. The quartz ring was then removed and the zero point of the balance was once more recorded. The data obtained shows that the balance can easily be set to within 2 scale division and that the precision of weighing is of a reasonable order.

Table V.

Weighing No.	Zero Reading	Angle of Torsion	Deviation from Mean
1	1 rev. 28 divs.	198 revs. 25 divs.	+ 1.8 divs.
2	—	198 " 25 "	+ 1.8 "
3	—	198 " 21 "	- 2.2 "
4	—	198 " 22 "	- 1.2 "
5	—	198 " 24 "	+ 0.8 "
6	—	198 " 23 "	- 0.2 "
7	—	198 " 21 "	- 2.2 "
8	—	198 " 25 "	+ 1.8 "
9	—	198 " 22 "	- 1.2 "
10	1 rev. 32 divs.	198 " 24 "	+ 0.8 "

Mean of Torsion Angle = 198 revs. 23.2 divs.

Numerical Sum of Deviations = 14 divs. Av. Deviation = 1.4 divs.

True Average Weight of Sample = 305.14 μ g.

Precision of Weighing = $1.4 \times 0.031 \mu\text{g} = 0.0434 \mu\text{g}$.

General Considerations.

The balance was used in our laboratory mounted on a cork mat on a firm bench. No special precautions were taken to insulate the instrument from the usual fluctuations in laboratory temperature. The linear coefficient of expansion of quartz is remarkably small and the excellent temperature stabilising effect of the solid metal block of the balance case smoothes out any possible sudden fluctuation in temperature in the neighbourhood of the instrument. Over a period of a year during which the balance was in constant use by several operators virtually no change in the calibration of the instrument was observed, and no undesirable effects due to temperature changes in the laboratory were reported. Local vibrations have remarkably little effect on the stability of the instrument. Striking the bench, on which the balance is mounted, with a sharp hammer blow produces rapid oscillation of the images of the index fibre as viewed through the eyepiece of the comparator system, but this oscillation damps down completely in 25 seconds and the beam comes to rest in exactly its former position.

The maximum load which the balance is capable of taking could only be ascertained by breaking the torsion fibre and this was therefore not investigated, but samples of the order of 700 μ g have been successfully weighed without damage to the instrument. This weight corresponds to ca. 450 revolutions of the torsion head and therefore 22 to 23 revolutions of the torsion fibre.

This remarkable amount of torsion is surprising in view of the fact that most other workers in this field have restricted rotation of the quartz torsion fibre to 8 to 10 complete revolutions. Whether this is due to extreme caution on the part of these earlier workers or whether the difference in behaviour can be accounted for due to our method of assembling the torsion system is uncertain. It is certainly the case that the use of fused joints leads to brittleness of the torsion system when contaminants are present, and it may well be that our complete avoidance of fused joints by using adhesive to make these joints can account for this difference.

The entry of dust into the balance must be guarded against whenever possible. This fact was taken into consideration in designing the balance. Provided the doors of the pan-wells are not opened when any vigorous air currents are in motion near the balance, the doors of the balance can be left open for a considerable period without much change in the zero point of the balance. Removing the top of the balance case has a marked effect, however, and this is to be avoided except when absolutely necessary.

The prevailing conditions in the laboratory in which the balance has so far been used are fairly humid. This alone would tend to minimise the pick-up and generation of electrostatic changes in and near the balance case. As a precaution, however, the metal block of the balance was connected to a good earth and the forceps, with which the objects

being weighed were handled, were also earthed. In addition, the polished aluminium loading block on which the platinum weighing vessels were placed during insertion of the sample was also connected to earth. The use of a radio-thallium source as recommended by other workers was not found to be necessary. The zero point of the balance was found to be extremely stable. The variation observed from one end of the day to the other rarely exceeded 5 scale divisions.

Acknowledgements.

We wish to thank the Department of Scientific and Industrial Research for a research award enabling this work to be carried out. Our thanks are also due to the Atomic Energy Research Establishment at Harwell for the gift of some accurately drawn quartz fibres.

Special thanks are due to Dr. *C. L. Wilson* of Queens University, Belfast for giving use the benefit of his advice and experience and also to Mr. *W. Duggins* of the Machine Shop of this department without whose skill and ingenuity the mechanical parts of the balance could not have been made.

Summary.

The construction of a robust quartz fibre ultramicrobalance has been described. The quartz fibre beam is assembled very simply without the use of any elaborate jig system by the method described by *Wilson* and *El-Badry*. The beam and torsion system are housed in a solid metal block thus minimising the undesirable phenomena associated with temperature fluctuations and with large air spaces inside balance cases. This robust, compact ultramicrobalance is capable of weighing samples less than 700 μg with a precision of 0.04 μg . The zero point of the balance is remarkably stable and no special precautions are necessary for the installation of the instrument other than the use of a firm table or bench.

Zusammenfassung.

Der Aufbau einer widerstandsfähigen Quarzfaden-Ultramikrowaage wird beschrieben. Der Quarzfaserbalken ist nach der von *Wilson* und *El-Badry* angegebenen Methode sehr einfach ohne irgend ein besonderes Schwingungssystem angebracht. Der Balken und die Torsionselemente sind in einem fest zusammengefügteten Metallblock untergebracht, so daß dadurch unerwünschte, mit Temperaturänderungen und größerem Luftraum im Waagengehäuse zusammenhängende Erscheinungen möglichst unterdrückt werden. Diese robuste, stabil konstruierte Ultramikrowaage eignet sich zur Wägung von Proben unter 700 μg mit einer Genauigkeit von 0,04 μg . Der Nullpunkt der Waage ist bemerkenswert stabil. Für die Aufstellung des Instrumentes sind mit Ausnahme eines stark gebauten Tisches keine besonderen Vorkehrungen nötig.

References.

- ¹ *W. Weber*, Wilhelm Webers Werke, Bd. 1. Berlin: 1892. p. 499.
- ² *B. D. Steele* and *K. Grant*, Proc. Roy. Soc. London A82, 580 (1909).
- ³ *H. Pettersson*, Thesis-University of Stockholm, Göteborg (1914).
- ⁴ *E. Salvioni*, Missina (1901).
- ⁵ *B. B. Cunningham* and *L. B. Werner*, J. Amer. Chem. Soc. 71, 1521 (1949).
- ⁶ *W. Nernst* and *E. A. Riesenfeld*, Ber. dtsh. chem. Ges. 36, 2086 (1903).
- ⁷ *E. A. Riesenfeld* and *H. F. Moeller*, Z. Elektrochem. 21, 131 (1915).
- ⁸ *F. Emich* and *J. Donau*, Mh. Chem. 36, 412 (1915).
- ⁹ *H. V. Neher* and *J. Strong*, Procedures in Experimental Physics. New York: Prentice Hall. 1942.
- ¹⁰ *P. L. Kirk*, *R. Craig*, *J. E. Gullberg*, and *R. Q. Boyer*, Analyt. Chemistry 19, 427 (1947).
- ¹¹ *C. L. Wilson* and *H. M. El-Badry*, Symposium on Microbalances, Royal Inst. of Chemistry London, 1950.
- ¹² *H. Carmichael*, Canad. J. Physics 30, 524 (1952).
- ¹³ *J. A. Kuck*, *P. L. Altieri* and *A. K. Towne*, Mikrochim. Acta [Wien] 1953, 254.
- ¹⁴ *B. B. Cunningham*, Nucleonics 5, 62 (1949).

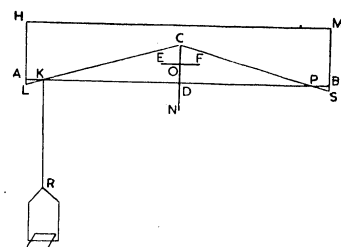


Fig. 1.

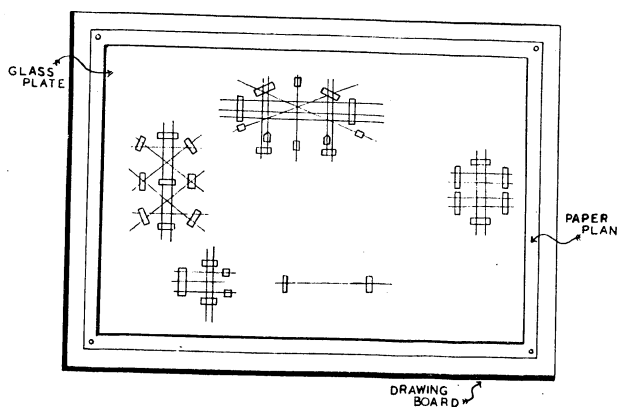


Fig. 2.

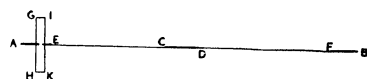


Fig. 3.

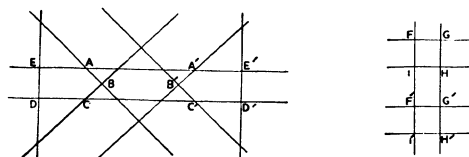


Fig. 4.

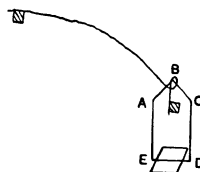


Fig. 5.

268 a

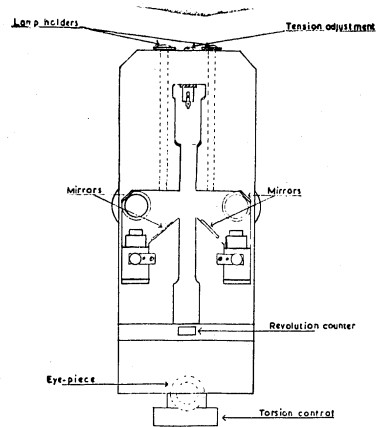


Fig. 6.

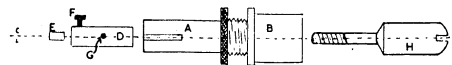


Fig. 7.

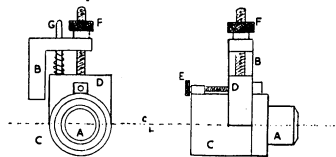


Fig. 8.

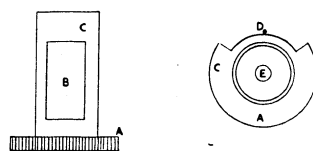


Fig. 9.

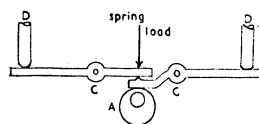


Fig. 10.

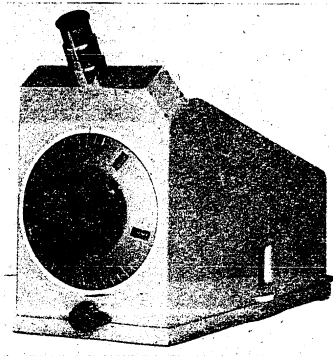


Fig. 11.

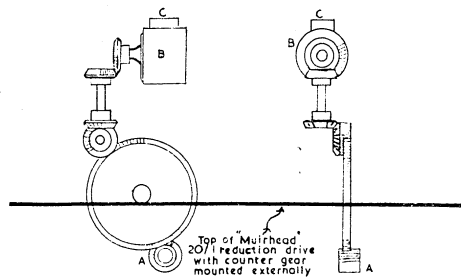


Fig. 12.

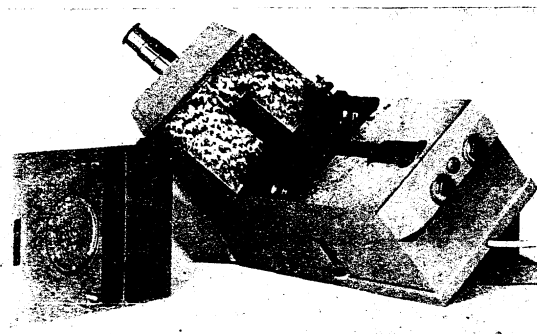


Fig. 13.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/45.

Zeilenanzahl: 250.

Aus dem Institut für Mineralogie, Technische Hochschule München.

Zur Spektralanalyse von Siliciumcarbid.

Von

Franz Rost.

Mit 9 Abbildungen.

(Eingelangt am 13. April 1955.)

Die Eigenschaften des technisch wichtigsten Schleifmittels Siliciumcarbid oder Carborund hängen in entscheidendem Maße von den Herstellungsbedingungen ab. Verunreinigungen, wie Eisen, Aluminium und Titan, daneben Magnesium und Calcium, die mit den Ausgangsmaterialien Quarz und Kohlenstoff verschiedener Herkunft und Reinheit in den Produktionsgang gebracht werden, spielen eine Rolle. Diese Verunreinigungen beeinflussen nicht nur rein äußerlich die Färbung — das am meisten geschätzte Material von hellgrüner Färbung zeichnet sich durch besondere Reinheit aus —, sondern auch Gitterbau³ und damit wesentliche Festigkeitseigenschaften des Siliciumcarbids. *F. Müller* und *Tor Sunde*⁵ halten neben dem Eisen vor allem das Aluminium für eine Güteminderung des SiC für verantwortlich.

Die analytische Erfassung der genannten Elemente sowohl in den Ausgangsmaterialien wie im Fertigprodukt Siliciumcarbid selbst stellt daher eine wichtige, den Wissenschaftler und Techniker interessierende Aufgabe dar, deren Lösung chemisch und spektralanalytisch möglich ist.

Die chemische Bestimmung der genannten außerordentlich verbreiteten „Spurenelemente“ im SiC führt bei erschwerten Aufschlußmöglichkeiten infolge der zu berücksichtigenden geringen Gehalte von Zehntel- bis Hundertstelprozent oft zu ungenauen Werten, da eine Einschleppung dieser Verunreinigungen in den Analysengang schwer vermeidbar ist. Die notwendige laufende Reinheitsüberprüfung der verwendeten Chemikalien ist aus denselben Gründen ebenfalls schwierig und zeitraubend. Die Gefahr der Einschleppung kann jedoch bei Wegfall jeglicher chemischer Behandlung durch Anwendung eines spektrographischen Analysenverfahrens vermieden werden, das für die Bestimmung der Verunreinigungen in Siliciumcarbid als besonders geeignet erscheint. In vorliegender Arbeit wurde daher versucht, einen Beitrag für die Grundlagen eines spektrographischen Analysenverfahrens für SiC zu liefern.

Apparatur und Methodik.

Spektrograph: Q 24 Carl Zeiß.

Optische Anordnung: Zwischenabbildung; Dreistufenfilter mit 4, 20 und 100% Durchlässigkeit auf Spaltlinse des Q 24; Spektrographenspaltbreite: 0,05 mm.

Bogen: Bogenstativ von H. Albrecht, Göttingen; Elektroden: Spektralkohlen der Firma Ruhstrat, Göttingen, Abmessungen: 1,3/2—5 mm; Gegenelektrode: 5 mm Durchmesser, plangeschliffen; Elektrodenabstand: 2,5 mm; Stromstärke: 6 Amp.; Netzspannung: 220 Volt Wechselstrom 50 Hz.

Platten und Entwicklung: Perutz-Reproduktionsplatte hart; Metol-Hydrochinon-Entwicklung bei 18° 4 min.

Auswertung: Fuess Vertikal-Photometer.

Analysenlinien:

Si 2987,7

Fe 3020,6

Al 3082,2
 Ti II 3234,5
 Mg II 2802,7
 Ca 3933,7

Grundlagen der Bestimmungsmethode.

Bei der quantitativen spektrographischen Bestimmung von Verunreinigungen in SiC tritt das Problem geeigneter Eichmischungen in den Vordergrund, da dem SiC spektral gleichwertige Eichsubstanzen — wie etwa SiC mit bekannten Gehalten — nicht oder nur mit größtem experimentellem Aufwand darzustellen sind. Die Heranziehung chemisch analysierter SiC-Proben liefert aus den in der Einleitung gestreiften Gründen keine sicheren Ausgangswerte.

Durch nachträgliche Zumischung der Bestimmungselemente — beispielsweise in Oxydform — zu einem möglichst reinen SiC ist zunächst eine Möglichkeit gegeben, Eichmischungen und Eichkurven zu erhalten. Wenn damit auch die Voraussetzungen völliger spektraler Gleichwertigkeit nicht erfüllt sind, zeigen doch die Intensität/Zeit-Diagramme für SiC mit und ohne Zumischung gleichartigen Kurvenverlauf für das Grundelement Si und die Zusatzelemente (Abb. 1 und 2).

Bei den kleinen zu bestimmenden Gehalten ergibt sich die Notwendigkeit, die auch im reinsten SiC als Grundsubstanz der Eichmischungen vorhandenen Verunreinigungen berücksichtigen zu müssen, was nach A. Gatterer¹ nur dann mit genügender Genauigkeit erfolgen kann, wenn man im geradlinigen Teil der Schwärzungskurve mißt. Dies ist hier erfahrungsgemäß nicht immer der Fall.

Auf der anderen Seite scheint eine quantitative Bestimmung — auch bei Fehlen spektraler Gleichwertigkeit — über Eichkurven möglich, die mit SiO₂ als Grundsubstanz aufgestellt werden können. SiO₂ ist als Bergkristall genügend rein — die Verunreinigungen betragen 10–40% und weniger.

Bei der Ableuchtung von Mischungen mit vorwiegend Quarz bildet sich in der Temperaturzone der Lochelektrode zwischen 1900° und 2200° aus SiO₂ und dem anwesenden Kohlenstoff (der üblichen Spektralkohlebeimischung sowie der Elektrodenwandung) intermediär in beträchtlicher Menge SiC, wie röntgenographisch nachgewiesen werden kann (Abb. 3). Ähnliche chemische Reaktionen in der Lochkohle und ihre Bedeutung für die Spektralanalyse beschrieb O. Leuchs⁴.

Trotzdem ergeben die I/t-Diagramme nur für gleichsiedende Elemente bzw. Verbindungen, wie etwa des Fe und Al, einen befriedigenden Kurvenverlauf. Das Ti zeigt dagegen aus SiO₂ als Basis erst gegen Ende der Ableuchtung das Hauptmaximum der Verdampfung und Anregung, dessen quantitative Erfassung eine längere Belichtungszeit von 5 Minuten notwendig macht (Abb. 4).

Die Eichkurven.

Die Eichkurven ergaben sich durch photometrische Auswertung von Aufnahmen der Eichmischungen mit SiC einerseits und SiO₂ andererseits als Grundsubstanzen. Zugemischt sind in beiden Fällen jeweils die Oxyde von Fe, Al, Ti und Mg. Für Eisen, Titan und Magnesium ergab sich ein paralleler Verlauf der Eichkurven (Abb. 5, 7 und 8). Dies ist theoretisch zu erwarten, da der Si-Gehalt im SiC 1,54mal höher liegt als in Quarz und die auf Si als Grundelement bezogenen ΔY -Werte bei den SiC-Kurven niedriger liegen müssen. Je nach der Neigung der „Eichgeraden“ beträgt diese Differenz bei gleichen Gehalten der Zusatzelemente für ΔY 0,12 bei Mg und 0,14 bei Ti.

Der Differenzwert beider Kurven beträgt für Fe nur 0,7, was auf eine verschiedene Ableuchtung des Fe aus SiC und SiO₂ zurückgeführt werden muß. Für Al (Abb. 6) konnte nur eine Kurve für die Bestimmung in SiO₂ erhalten werden, da die Al-Kurve für SiC als Grundsubstanz keine parallele Lage zur SiC-Kurve hatte, sondern wesentlich flacher verlief. Dieses Verhalten muß ebenfalls durch Ableuchtungsunterschiede gedeutet werden. Theoretisch müßte die SiC-Kurve parallel zur SiO₂-Kurve verlaufen. Sie wurde für Abb. 6 berechnet und eingezeichnet.

Es erscheint danach nicht berechtigt, vorliegende Eichkurven für

eine exakte *absolute* Gehaltsbestimmung von verunreinigenden Elementen in SiC heranzuziehen, da eine gleiche Ableuchtung von in SiC enthaltenen und zugemischten Fremdelementen nicht immer erwiesen ist. Trotzdem kann der Schluß gezogen werden, daß die Erfassung zumindest größenordnungsmäßig durchzuführen und nach ähnlicher Kurvenneigung und ähnlichem Kurvenverlauf eine *relative* Gehaltsbestimmung mit genügender Genauigkeit erfolversprechend ist. Diese Folgerung wird auch durch den mittleren Analysenfehler gestützt, der aus zahlreichen Aufnahmen einer SiC-Probe berechnet wurde und der nur in erträglichen Grenzen vom mittleren Fehler der Gehaltsbestimmungen in SiC und SiO₂ bei nachträglicher Zumischung abweicht (Tabelle 1).

Tabelle 1. Mittlerer Fehler der Gehaltsbestimmung.

	% SiC	% SiO ₂
Fe	± 15,8	± 14,0
Al	± 15,4	± 11,7
Ti	± 7,1	± 8,2
Mg	± 11,1	± 13,3

Analysenergebnisse.

Die nach dem angegebenen einfachen Verfahren spektralanalytisch untersuchten Siliciumcarbidproben wurden in einem Diamantmörser zerkleinert, von dem dadurch eingebrachten Eisen durch kurzes Kochen in verdünnter Salzsäure gereinigt und unter 0,055 mm Korngröße abgeseiht. Die feine Fraktion wurde zur Analyse verwendet.

Durchwegs ergab sich, daß Magnesium und Calcium in keinem Zusammenhang mit Aussehen und Eigenschaften des SiC stehen. Vor allem für Mg konnten nur wesentlich niedrigere Gehalte als nach chemischen Analysen nachgewiesen werden.

Eisen und Titan zeigen in den analysierten SiC-Proben (Produktion 1944 des Elektroschmelzwerks Kempten) einen annähernd gleichartigen Gehaltsgang, wobei die relativ reinen hellgrünen Sorten unter 0,03% liegende Fe-Gehalte haben. Der Ti-Gehalt schwankt hier zwischen 0,003 und 0,07%, liegt also durchwegs unter 0,1% TiO₂. In den dunklen Sorten steigt meist der Gehalt an Fe und Ti über 0,1% an und kann bis 1% erreichen.

Am aufschlußreichsten ist der Zusammenhang der durch Färbung äußerlich gekennzeichneten Eigenschaften des Siliciumcarbids mit dem Al-Gehalt, was die Überlegungen von F. Müller und Tor Sunde⁵ bestätigt. Im allgemeinen zeigen die hellgrünen SiC-Proben einen unter 0,03% liegenden Al₂O₃-Gehalt (bei gleichfalls durchschnittlich unter diesem Wert liegenden Eisengehalten). In Abb. 9 sind die Al₂O₃-Gehalte auf der Ordinate in logarithmischem Maßstab aufgetragen. Legt man die zugehörigen SiC-Proben auf eine (unter 45° verlaufende) beliebige Gerade, so zeigt die hier gewählte Darstellungsart deutlich die genannte Abhängigkeit der „hellen“ und „dunklen“ Sorten vom Al-Wert.

Im Übergangsgebiet sind zwei Proben herauszuheben, die trotz höherem Al-Gehalt nach ihrer Grünfärbung zu den „guten“ Sorten gerechnet werden müssen. Probe 2 hat einen ausgesprochen niedrigen Fe- und Ti-Gehalt, ebenso Probe 14. Das bedeutet, daß neben der Höhe des Al-Gehaltes auch Fe und Ti für die Eigenschaften des Siliciumcarbids maßgebend werden können. Probe 11 erweist dies deutlich, da hier bei relativ geringen Al-Gehalten sehr hohe Fe- und Ti-Werte eine dunkle Färbung verursachen. Auch Probe 13 fällt in das Übergangsgebiet, deren blaugrüne Färbung auf einen hier ungewöhnlich hohen Ti-Gehalt von über 0,1% TiO₂ zurückgeführt werden kann. Die aus vorliegenden Analysenergebnissen zu ziehenden Schlußfolgerungen werden auch durch die Werte norwegischer Proben aus Arendal bestätigt, die bei hellgrüner Färbung nach ihrem Al-Gehalt in das Übergangsgebiet fallen müßten, jedoch nur geringe Spuren an Fe und Ti enthalten (Nr. 9 und 10 in Abb. 9).

Vergleich mit chemischen Analysen.

In der Einleitung wurden bereits die Schwierigkeiten einer chemischen Bestimmung der Verunreinigungen in Siliciumcarbid erwähnt, die die Ergebnisse unter Umständen zweifelhaft erscheinen lassen müssen. Diese Bedenken werden durch eine Gegenüberstellung der Analysendaten nach beiden Verfahren bestätigt, die vor allem im Eisengehalt beträchtlich voneinander abweichen können. Hier sind die *relativen* Differenzen am größten und dürften auf die Möglichkeit einer Einschleppung in den chemischen Analysengang zurückzuführen sein. Im allgemeinen bestätigen jedoch die chemischen Analysenwerte die Aussage über die größenordnungsmäßig richtige Bestimmung nach dem spektrographischen Verfahren, dessen relative Genauigkeit als besser angesehen werden muß.

Tabelle 2. Vergleichsanalysen von Siliciumcarbid.
(a chemisch, b spektralanalytisch)

Probe-Nr.		Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	TiO ₂
1	a	0,05	0,17	0,05
	b	0,03	0,005	0,01
2	a	0,04	0,21	0,04
	b	0,075	0,005	0,00
136	a	0,093	0,13	0,055
	b	0,10	0,02	0,042
142	a	0,11	0,15	0,094
	b	0,13	0,08	0,05
130	a	1,5	—	—
	b	0,47	1,0	0,06
3	a	0,11	0,15	0,05
	b	0,50	0,01	0,01
240	a	0,17	0,35	0,11
	b	0,75	0,005	0,055
127	a	1,5	—	—
	b	0,80	1,0	0,80

Zusammenfassung.

Aus der Diskussion der Grundlagen einer spektrographischen Siliciumcarbidanalyse und deren Ergebnissen folgt die Überlegenheit gegenüber der chemischen Analyse bei der relativen Gehaltsbestimmung verunreinigender Fremdelemente (Al, Fe, Ti und Mg), die bei einfacher Methode mit einem mittleren Fehler von 7 bis 15% durchgeführt werden kann. Die absolute Gehaltsangabe ist größenordnungsmäßig möglich.

Die Analysenergebnisse an zahlreichen SiC-Proben zeigen eine deutliche Abhängigkeit der Eigenschaften vom Al-Gehalt, die durch extrem hohe bzw. niedrige Werte von Fe und Ti beeinflusst werden kann.

Summary.

The discussion of the fundamentals of a spectrographic analysis of silicon carbide and their results shows its superiority as compared with chemical analysis in the relative determination of the content of contaminating foreign elements (Al, Fe, Ti, Mg). This analysis can be conducted by a simple method with a mean error of 7 to 15%. It is possible to state the absolute content in order of size.

The analytical results in many samples of SiC show a distinct dependence of the properties on the Al-content, which may be influenced by extremely high or low values of iron and titanium.

Literatur.

- ¹ A. Gatterer, Spectrochim. Acta **1**, 513 (1941).
- ² H. Hausner, Dissertation. Technische Hochschule München. 1953.
- ³ H. Jagodzinski, Neues Jb. Mineral. Mh. **1954**, 49.
- ⁴ O. Leuchs, Spectrochim. Acta **4**, 237 (1950).
- ⁵ F. Müller und T. Sunde, Die Chemie **56**, 355 (1943).

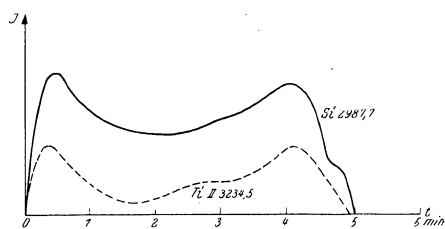


Abb. 1. I/t-Diagramm für die Eichmischung 0,1% TiO_2 in SiC.

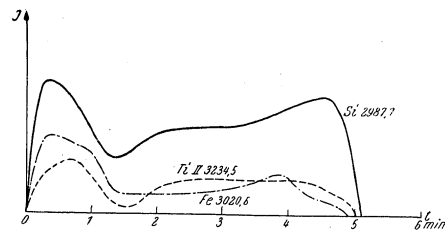
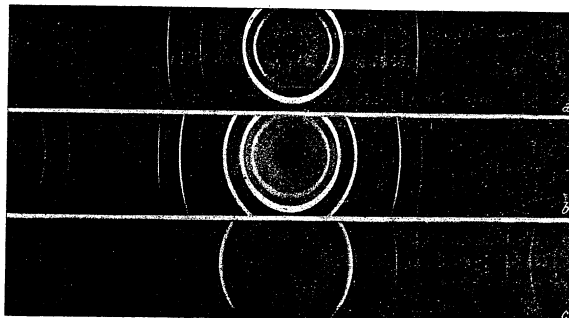
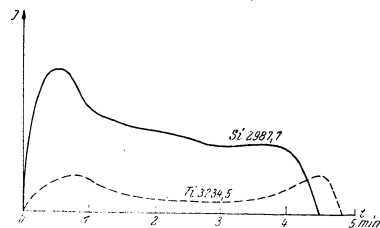
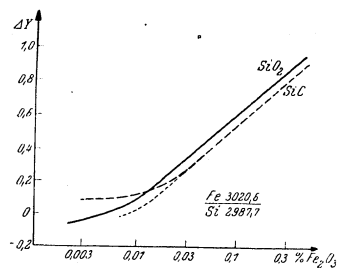
Abb. 2. I/t-Diagramm für SiC (mit etwa gleichem TiO_2 -Gehalt).Abb. 3. Debye-Scherrer-Diagramme von SiO_2 (a), SiC (c) und einer SiO_2C -Kohlefüllung nach 5 sek Bogenbrand (b) (2).Abb. 4. I/t-Diagramm für die Eichmischung 0,1% TiO_2 in Quarz.

Abb. 5. Eichkurve für die Bestimmung von Fe.

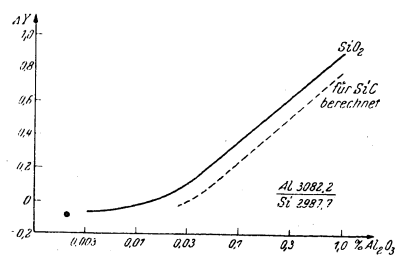


Abb. 6. Eichkurve für die Bestimmung von Al.

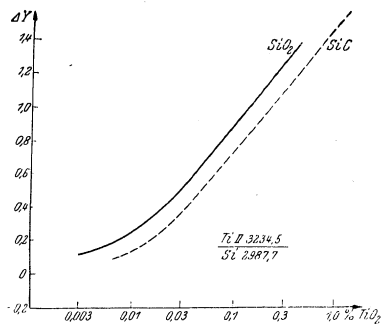


Abb. 7. Eichkurve für die Bestimmung von Ti.

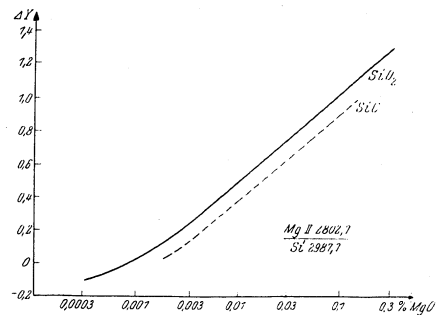


Abb. 8. Eichkurve für die Bestimmung von Mg.

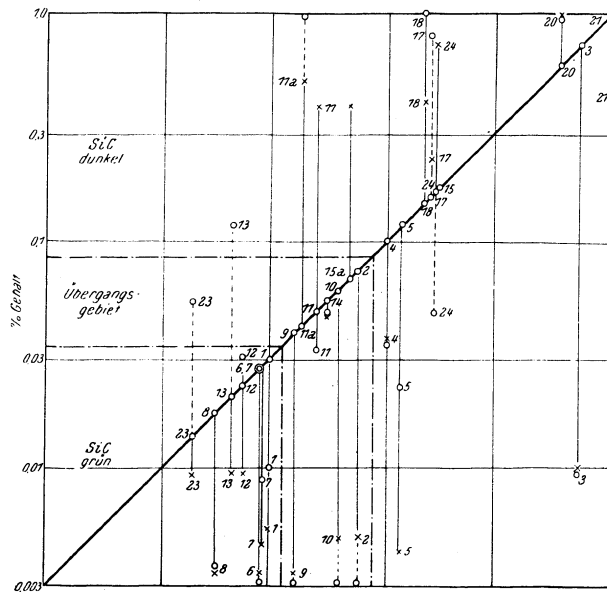


Abb. 9. Analysenergebnisse von SiC-Proben.
 Auf der 45°-Geraden sind die Al-Werte eingetragen; Fe-Werte (x) außerhalb dieser Geraden durch vertikale Striche für die jeweilige Probe miteinander verbunden.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/46.

Zeilenanzahl: 126.

Aus dem Mikroanalytischen Laboratorium der pharmazeutischen Abteilung
der Sandoz A. G., Basel, Schweiz.

Beitrag zur mikroanalytischen Sauerstoffbestimmung nach Unterzaucher.

Von
W. Schöniger.

Mit 3 Abbildungen.

(Eingelangt am 7. April 1955.)

Die im hiesigen Laboratorium seit geraumer Zeit im täglichen Betrieb befindliche Sauerstoffapparatur läuft in Übereinstimmung mit der von Unterzaucher aufgestellten Forderung blindwertfrei. Desgleichen hat sich der bei uns entwickelte Ofen ausgezeichnet bewährt¹ und zeigt selbst nach nunmehr über 10.000 Betriebsstunden keinerlei Ermüdungserscheinungen.

Im folgenden soll nun über eine Beobachtung berichtet werden, die über die Dauer der Verwendbarkeit des Kohlekontaktes Aufklärung gibt. Vorausgeschickt sei, daß die Quarzrohre und der Kohlekontakt (Gasruß CK 3) bei der von Unterzaucher² angegebenen Stelle bezogen werden, die Anhydrosäure wurde nach Vorschrift hergestellt und ist einwandfrei.

Nach ungefähr 600 durchgeführten Analysen (entspricht einer Betriebszeit von ungefähr drei Monaten) zeigen die Rohre Ermüdungserscheinungen, die sich darin äußern, daß Testanalysen Unterwerte ergeben, die außerhalb der zulässigen Fehlergrenze liegen. Ein Blindwert tritt auch zu diesem Zeitpunkt nicht auf. Um daher Fehlresultaten aus dem Wege zu gehen, wird ein Kontaktrohr routinemäßig nach drei Monaten ausgewechselt. Um die möglichen Ursachen dieser Erscheinung aufzuklären, wurden mehrere „verbrauchte“ Rohre aufbewahrt und schließlich gemeinsam untersucht. Zu diesem Zweck wurden die Rohre vorsichtig aufgeschnitten, um möglichst verschiedene Stellen der Kohlefüllung gesondert untersuchen zu können.

Dabei zeigte sich folgendes: Die an Stelle von Quarzfäden verwendeten Quarzsplitter waren durch eingelagerte Kohle (von den verkrackten Substanzen herrührend) an der Ofeneintrittsseite so fest miteinander verbunden, daß der ganze „Pfropf“ mit dem Hammer zerschlagen werden mußte (Abb. 1). Eine ungefähr 20 bis 30 mm lange Schicht des gekörnten Gasrusses war, ebenfalls an der Ofeneintrittsseite, grau verfärbt, die im ungebrauchten Zustand schwarzen, weichen Kügelchen waren hart und ließen sich nicht mehr zerdrücken (Abb. 2). Beim Aufschlagen konnte beobachtet werden, daß einige vollkommen „durchgefärbt“ und hohl waren, andere hingegen waren nur mit einer grauen Schicht überzogen.

Es lag nun die Vermutung nahe, daß der Gasruß durch die ständige Erhitzung auf 1120° C teilweise graphitiert war. Um eine Bestätigung dieser Annahme zu erhalten, wurden zwei Proben, die von verschiedenen Abschnitten der Rohrfüllung entnommen waren, sowie eine Probe des ungebrauchten Gasrusses einer Röntgenfeinstruktur-Untersuchung unterzogen. Die Untersuchung wurde von der Eidgenössischen Materialprüfungs- und Versuchsanstalt, Abt. Röntgenographie, Zürich, durchgeführt. Der Bericht darüber sei hier auszugsweise mitgeteilt:

„Von den drei Gasrußproben (ungebraucht, Ofeneintritt und Ofenmitte) wurden Röntgenpulveraufnahmen hergestellt und nach dem Debye-Scherrer-Verfahren mit Kupfer-K-Strahlung untersucht. Von Probe 2 (Ofeneintritt) wurde je noch eine Aufnahme vom noch schwarzen

Inneren der Kügelchen und von der grauen Schale derselben gemacht, wobei es allerdings nicht gelang, die Anteile vollständig zu trennen.

Anfangen von Probe 1 (ungebraucht) über Probe 3 (Ofenmitte) und Inneres von Probe 2 zum Äußeren von Probe 2 zeigt sich eine zunehmende Anzahl von Interferenzen mit in gleicher Richtung zunehmender Intensität und Schärfe. Die an einer Schale von Probe 2 (Ofeneintritt) erhaltenen Linien stimmen bereits sehr gut mit den stärksten Interferenzen von Graphit überein, wenn auch ihre Intensität und Schärfe viel geringer als beim Graphit ist.

Die Inaktivierung des Gasrusses ist somit offensichtlich auf eine zunehmende Kristallisation des zuerst (röntgen-) amorphen Russes zurückzuführen. Die graue Außenschicht der Rußkügelchen vom Ofeneintritt ist am besten kristallisiert und hat bereits eine Struktur, die sehr ähnlich wie diejenige von grob-kristallinem, natürlichem Graphit ist."

Diesem Bericht beigegebenen Abbildungen (Abb. 3) zeigen deutlich die erwähnte Graphitierung des ursprünglich amorphen Gasrusses. Da nun die Graphitierung der Kontaktkohle — kenntlich an der Grauverfärbung des Russes — in einigen Rohren bis über 30 mm in den Ofen hinein erfolgt war, ergab sich daraus zwangsläufig die Erklärung für die „Ermüdung“ der Rohrfüllung. Diese Feststellung steht auch in Übereinstimmung mit der von *Unterzaucher*³ aufgestellten Forderung, daß bei Verwendung einer mehr kristallinen Kohle eine längere Kontaktschicht als die empfohlene, 100 mm lange, zu verwenden ist.

Wahrscheinlich ist die Graphitierung nicht auf eine allmähliche Umwandlung der Kontaktkohle zurückzuführen — gegen diese Annahme spricht die Tatsache, daß gerade die Rußkügelchen am Ofeneintritt am weitesten graphitisiert sind —, sondern darauf, daß der von der vercrackten organischen Substanz herrührende Kohlenstoff sich in kristalliner Form abscheidet. Ein weiterer Beweis für diese Annahme ist, daß die zur Fixierung der Rohrfüllung verwendeten Quarzsplitter an der Ofeneintrittsseite fest miteinander verbunden sind, was bei Abscheidung von amorphem Kohlenstoff sicher nicht der Fall wäre.

Es ist deshalb empfehlenswert, nicht nur dem Auftreten von weißen Flecken an der Innenwand des Quarzrohres — ein sicheres Zeichen für dessen Unbrauchbarwerden — erhöhtes Augenmerk zuzuwenden, sondern auch auf die nicht zu vermeidende Graphitierung der Rohrfüllung zu achten. Während sich jedoch Fehler am Quarzrohr durch das Auftreten eines mehr oder minder großen Blindwertes selbst bemerkbar machen, sind die durch die zunehmende Graphitierung der Kontaktkohle verursachten Fehlresultate unangenehmer, da sie sich nur im Auftreten von Unterwerten bei den Analysen zeigen. Diese werden aber immer häufiger die zulässige Fehlergrenze unterschreiten.

Um daher Enttäuschungen sicher zu vermeiden, ist die von uns geübte Praxis anzuempfehlen, ein Rohr nach ungefähr drei Monaten (dieser Zeitraum entspricht ca. 500 bis 600 Analysen) auszuwechseln.

Der Eidgenössischen Materialprüfungs- und Versuchsanstalt, Abt. Röntgenographie, Zürich (Leitung: Dr. W. *Epprecht*), sei auch an dieser Stelle der Dank für die Durchführung der Röntgenuntersuchung zum Ausdruck gebracht.

Zusammenfassung.

Es wird über eine bei der Sauerstoffbestimmung nach *Unterzaucher* gemachte Beobachtung berichtet, die das Auftreten von Unterwerten verursacht. Als Grund hierfür wird die innerhalb längerer Zeit erfolgende Graphitierung der Kontaktrohrfüllung festgestellt. Diese wurde durch Röntgenfeinstruktur-Aufnahmen bewiesen. Es wird empfohlen, ein im täglichen Gebrauch befindliches Kontaktrohr nach dreimonatigem Gebrauch auszuwechseln, um Fehlresultate zu vermeiden.

Summary.

A report is given of an observation made in the determination of oxygen by the *Unterzaucher* procedure. It leads to low values. The reason was found to be the graphitization of the contact tube filling after prolonged use. This was demonstrated by means of Röntgen fine structure photographs. It is recommended that a contact tube, which is in daily use, be exchanged after three months to avoid erroneous results.

Literatur.

- ¹ W. Schöniger, Mikrochim. Acta [Wien] 1954, 320.
- ² J. Unterzaucher, Bull. soc. chim. France (3) 20, C 71 (1953).
- ³ J. Unterzaucher, Analyst 77, 584 (1952).



Abb. 1.



gebraucht ungebraucht
Abb. 2.



Abb. 3.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/47.

Zeilenanzahl: 256.

Aus dem Mikroanalytischen Laboratorium der pharmazeutischen Abteilung
der Sandoz A. G., Basel, Schweiz.

Die mikroanalytische Schnellbestimmung von Halogenen und Schwefel in organischen Verbindungen.

Von

W. Schöniger.

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 7. April 1955.)

In einer vorhergehenden Veröffentlichung¹ wurde über eine einfache und genaue mikroanalytische Halogenbestimmung berichtet. Diese Methode hat sich unterdessen in der täglichen Praxis bewährt. Über notwendige Verbesserungen, sowie über die Bestimmung von Schwefel nach dem gleichen Verfahren soll im folgenden berichtet werden.

Das Prinzip der Methode ist folgendes: Die zu untersuchende Substanz wird in einem Stück aschefreiem Filterpapier in einem mit Sauerstoff gefüllten Erlenmeyerkolben verbrannt, die Verbrennungsprodukte absorbiert und der Gehalt des zu bestimmenden Elementes maßanalytisch erfaßt. Die Bestimmung von Chlor und Brom auf acidimetrischem Wege nach *Vieböck*², sowie die Bestimmung des Jods nach *Leipert*³ wurde bereits ausführlich beschrieben.

Schon bei der Ausarbeitung dieser Vorschriften konnte festgestellt werden, daß es möglich ist, auch den Schwefelgehalt acidimetrisch zu bestimmen, sofern in der zu analysierenden Substanz nur C, H, O und S enthalten sind. Ebenso ist die Bestimmung von Schwefel neben gleichzeitig vorhandenem Halogen möglich⁴, sofern in der Verbindung kein Stickstoff anwesend ist. Für eine allgemein anwendbare Schwefelbestimmung mußte aber ein anderes Bestimmungsverfahren gesucht werden. Als weitaus einfachste und dennoch genaueste Methode erwies sich die komplexometrische Bestimmung⁵. Zu diesem Zweck wird das nach der Absorption der Verbrennungsprodukte vorhandene Sulfat im Verbrennungskolben nach dem Ansäuern mit einer Bariumchloridlösung bekannten Gehaltes im Überschuß gefällt und dieser Überschuß mit einer Komplexon-III-Maßlösung bestimmt.

Im folgenden werden nun die genauen Arbeitsvorschriften für diese Schwefelbestimmung, sowie einige Abänderungen bzw. Ergänzungen mitgeteilt.

Reagenzien:

a) für die Brombestimmung nach *Kolthoff*^{6,7}.

Pufferlösung: 20 g Natriumdihydrogenphosphat werden in 100 ml dest. Wasser gelöst.

Natriumchloridlösung: 300 g NaCl p. a., gelöst in 1000 ml dest. Wasser.

Hypochloritlösung: In eine ca. 1,1-n Natriumhydroxydlösung wird soviel Chlor eingeleitet, daß die Lösung ca. 1-n an Chlor ist (durch Wägung kontrollieren).

Natriumformiallösung, ca. 50%ig.

Schwefelsäure, ungefähr 6-n.

Natriumthiosulfatlösung, 0,02-n.

Stärkelösung, 1%ig, stabilisiert nach *Ballezo* und *Mondl*⁸.

b) für die Fluorbestimmung nach *Brunisholz* und *Michod*⁹.

Salzsäure, 0,01-n.

Natriumhydroxydlösung, 0,01-n.

Bromthymolblau, 1%ig, wäbrig.

*Murexid*lösung: ca. 0,5 g Murexid werden in ungefähr 50 ml dest. Wasser gelöst. Der Indikator ist in Lösung nicht beständig und muß täglich frisch bereitet werden.

Cer-III-chloridlösung, 0,01-n: 1,24 g $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (Merck, p. a.) werden in 1000 ml dest. Wasser gelöst*.

* Bestimmung des Faktors: 25 ml der Lösung werden mit einigen Kristallen Oxalsäure versetzt. Das entstandene Ceroxalat wird auf einem aschefreien Filter quantitativ gesammelt und nach dem Waschen und Trocknen in einem Pt-Tiegel zu CeO_2 verglüht.

Methylalkohol, p. a.

c) für die komplexometrische Schwefelbestimmung⁵.

Natriumhydroxylösung, ca. 1-n.

Salzsäure, ca. 1-n.

Wasserstoffperoxyd, 30%ig, p. a.

Äthylalkohol, purissimum.

Ammoniak, conc., p. a.

Bariumchloridlösung, 0,01-m: 2,4431 g $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ werden in 1000 ml bidest. Wasser gelöst.

Komplexon-III-lösung, 0,01-m: 3,722 g des Dinatriumsalzes der Äthylendiamintetraessigsäure werden in 1000 ml bidest. Wasser gelöst.

Metallphthalein-Indikator: 0,18 g Kresolphthalein-bis-methyliminodinessigsäure und 0,02 g Naphtholgrün (Farbstofftabellen *Schulz* Nr. 5) werden mit einigen Tropfen conc. Ammoniak versetzt und mit bidest. Wasser auf 100 ml verdünnt. Die Lösung ist nur einige Wochen haltbar.

Apparatives.

Der in der I. Mitteilung (dort Abb. 1) gezeigte Erlenmeyerkolben hat sich bewährt. Da jedoch festgestellt wurde, daß die Platindrähte nach relativ kurzer Zeit spröde wurden und brachen, werden jetzt kleine Platinnetzstückchen (siehe Abb. 1) verwendet. Die Drahtstärke beträgt 0,5 bis 0,8 mm.

Methodik.

Die Einwaage erfolgt in der bereits beschriebenen Weise. Das eingerollte Filterpapier wird so in das Platinnetz geklemmt, daß der „Zündstreifen“ frei nach unten herausragt. Je nach der durchzuführenden Bestimmung muß als Absorptionsmittel entweder Natronlauge oder dest. Wasser verwendet werden. Im einzelnen wird folgendermaßen vorgegangen:

a) Die Bestimmung von *Chlor* und *Jod* erfolgt in der bereits beschriebenen Weise.

b) Die Bestimmung von *Brom*:

Die acidimetrische Bestimmung des Broms nach dem Verfahren von *Vieböck* hat den Nachteil, daß der Umrechnungsfaktor sehr ungünstig ist (1 ml 0,01-n NaOH entspricht 0,7992 mg Br). *Kainz*⁷ verwendet nun nach dem Kaliumaufschluß zur Br-Bestimmung die Methode von *Kolthoff*⁸. Bei Überprüfung dieser Vorschrift zeigte sich ihre Brauchbarkeit auch für unseren Aufschluß.

Man gibt als Absorptionslösung in den Verbrennungskolben: 5 ml Pufferlösung, 20 ml Kochsalzlösung und 10 ml Hypochloritlösung. Nach der Verbrennung wird zur rascheren Absorption öfters geschüttelt, schließlich der Schliffstopfen unter gleichzeitigem quantitativem Abspülen entfernt und der Kolbeninhalt gerade zum Sieden erhitzt. Zur Zerstörung des überschüssigen Hypochlorits werden 5 ml Natriumformiatlösung zugegeben und nochmals kurz aufgeköcht. Mittels eines Handgebläses wird allenfalls entstandenes Chlor aus dem Kolben entfernt. Man kühlt den Kolben unter fließendem Wasser ab, versetzt mit 20 ml 6-n Schwefelsäure, gibt ca. 0,2 g Kaliumjodid zu, füllt auf 100 ml mit dest. Wasser auf (Marke am Kölbchen!) und titriert in der üblichen Weise mit 0,02-n Natriumthiosulfatlösung.

1 ml 0,02-n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ entspricht 0,2664 mg Br.

Da festgestellt wurde, daß auch analysenreines Natriumchlorid feststellbare Bromid- bzw. Jodidmengen enthalten, kann muß für jeden neuen Reagenzienansatz ein Blindwert in der eben beschriebenen Weise er-



Abb. 1.
Natürl.
Größe.

mittelt werden.

e) Die Bestimmung von Fluor*:

Von den verschiedenen Verfahren für die maßanalytische Bestimmung des Fluors erwies sich die Methode von *Brunisholz* und *Michod*⁹ als die brauchbarste.

* Diese Methode wurde auf Vorschlag von Herrn *P. Graf* für unser Schnellverfahren eingeführt und erprobt. Es sei ihm auch an dieser Stelle der Dank hierfür zum Ausdruck gebracht.

Zur Absorption der Verbrennungsprodukte werden in den Kolben einige ml dest. Wasser gegeben. Nach dem Entfernen des Schliffstopfens säuert man die Lösung mit ca. 5 ml 0,01-n Salzsäure an, kocht zur Entfernung des Kohlendioxids kurz auf, neutralisiert mit 0,01-n Natronlauge gegen Bromthymolblau als Indikator und gibt nach dem Umschlag auf grün gerade soviel Säure zu, daß die Lösung gelb bleibt (pH 5 bis 6). Ein Überschuß an Säure ist zu vermeiden. Jetzt wird die Lösung mit der gleichen Menge Methylalkohol versetzt und 5 Tropfen Murexidlösung zugegeben. Man titriert mit 0,01-n Cer-III-chloridlösung, bis der Indikator von violett auf orange umschlägt.

1 ml 0,01-n CeCl_3 entspricht 0,1900 mg F.

Der Indikatorfehler ist gesondert zu bestimmen und in der üblichen Weise vor der Berechnung abzuziehen. Nach *Brunisholz* und *Michod* stören gleichzeitig vorhandenes Carbonat, Sulfat und Phosphat.

d) Die Bestimmung von Schwefel:

Sofern es sich um stickstofffreie Verbindungen handelt, kann man in dest. Wasser, dem 3 bis 5 Tropfen 30%iges Wasserstoffperoxyd zugesetzt werden, absorbieren und die entstandene Schwefelsäure direkt mit 0,01-n Natronlauge bestimmen. Ist neben Schwefel auch Chlor oder Brom vorhanden, so kann man nach *Milton* und *Waters* wie folgt vorgehen. Es wird ebenfalls in dest. Wasser mit 30%igem Perhydrol absorbiert und zunächst die Gesamtacidität (d. h. Schwefelsäure und Halogenwasserstoffsäure) bestimmt. Anschließend wird, wie bereits in der vorherigen Mitteilung beschrieben, mit neutraler Quecksilberoxycyanidlösung versetzt und das Halogen-Ion bestimmt. Ist in der Substanz jedoch auch Stickstoff vorhanden, so muß wie folgt vorgegangen werden.

Die Verbrennungsprodukte werden in 5 ml 1-n Natronlauge, die mit 3 Tropfen 30%igem Wasserstoffperoxyd versetzt wurden, absorbiert. Man läßt zur vollständigen Absorption 10 bis 15 Minuten stehen, entfernt dann den Schliffstopfen und kocht einige Minuten zur Zerstörung des Wasserstoffperoxyds. Jetzt säuert man mit 7 ml 1-n Salzsäure an, kocht nochmals kurz auf, um jegliches Kohlendioxyd zu entfernen und versetzt mittels einer geeichten Pipette mit 10 ml 0,01-m Bariumchloridlösung. Zur Einleitung der Fällung werden einige ml Alkohol zugegeben und der Kolbeninhalt 30 Minuten am Wasserbad erwärmt. Nach dieser Zeit wird unter fließendem Wasser abgekühlt, 10 ml 0,01-m Komplexon-III-lösung zugegeben (geeichte Pipette), mit 6 bis 7 ml conc. Ammoniak alkalisch gemacht (pH soll nicht wesentlich unter 11 liegen) und nach Zugabe von 0,3 ml Metallphthalein-Indikator die Lösung mit Alkohol aufs Doppelte verdünnt. (Gesamtvolumen ca. 80 bis 100 ml.) Man titriert mit 0,01-m Bariumchloridlösung bis der Indikator von schwach grün auf grau bzw. hellblau umschlägt.

1 ml 0,01-m BaCl_2 entspricht 0,3206 mg S.

Die Einwaage ist so zu wählen, daß höchstens 2,2 mg S zu bestimmen sind, da sonst der verwendete Überschuß an Bariumchloridlösung für eine quantitative Fällung zu gering ist. Bei der Auswertung des Ergebnisses ist eigentlich mit der Differenz zwischen insgesamt zugegebener Bariumchloridlösung und Komplexon-III-lösung zu rechnen. Da jedoch von beiden vor der eigentlichen Titration je 10 ml zur Lösung zugegeben werden, kann direkt mit dem an der Burette abgelesenen Verbrauch gerechnet werden. Auf größte Reinheit der verwendeten Geräte und des destillierten Wassers ist zu achten (vgl. 10, 11).

Einige Analysenwerte sollen die Zuverlässigkeit der Fluor-, Brom- und Schwefelbestimmung unter Beweis stellen.

Tabelle 1.

mg Substanz	% gefunden	% berechnet
<i>Brombestimmung:</i>		
Bromural:		
4,575	35,64	35,82
3,210	35,77	
3,375	35,60	
2,845	35,86	
Tribromphenol:		
9,619	72,27	72,48
3,190	72,60	
4,985	72,78	
$C_{19}H_{19}O_2N_2Br$:		
5,167	20,57	20,64
10,680	20,85	
<i>Fluorbestimmung:</i>		
m-Trifluor-methylbenzoesäure:		
7,002	29,90	29,98
14,680	30,08	
Trifluoracetyl-cyclohexamin:		
8,132	28,93	29,23
9,170	29,27	
1,3-Diimino-2,4-perfluorocyclohexan:		
13,325	56,62	56,30
<i>Schwefelbestimmung:</i>		
Thioharnstoff:		
3,760	42,09	42,09
4,344	42,05	
3,629	42,28	
Dimercapto-thiodiazol (technisch rein):		
4,023	63,11	64,02
3,705	63,07	
Sulfanilsäure:		
5,315	18,36	18,56
7,265	18,38	
5,669	18,30	
Sulfonal:		
3,588	28,00	28,09
4,858	28,02	
5,600	28,20	

Zusammenfassung.

Es wird eine Verbrennungsmethode beschrieben, um auf einfachste Weise in kurzer Zeit den Halogen- bzw. Schwefelgehalt organischer Verbindungen bestimmen zu können. Bei geringstem apparativen Aufwand können mit den empfohlenen maßanalytischen Verfahren genaue Analysenwerte erhalten werden, die innerhalb der üblichen Fehlergrenze von $\pm 0,3\%$ liegen.

Summary.

A description is given of a combustion method, which accomplishes in most simple fashion and in a short time the determination of the sulfur or halogen content of organic compounds. Little apparatus is required, and by following the recommended titrimetric procedures accurate analytical results are obtained, which lie within the usual limits of error: $\pm 0.3\%$.

Literatur.

- ¹ W. Schöniger, Mikrochim. Acta [Wien] 1955, 123.
- ² F. Viehöck, Ber. dtsh. chem. Ges. 65, 496 (1932).
- ³ T. Leipert, Biochem. Z. 261, 436 (1933).
- ⁴ R. F. Milton and W. A. Waters, Methods of Quantitative Organic Micro-Analysis. London: E. Arnold. 1949. S. 88.
- ⁵ G. Anderegg, H. Flaschka, R. Sallmann und G. Schwarzenbach, Helv. Chim. Acta 37, 113 (1954).
- ⁶ M. Kolthoff, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. 9, 75 (1937).
- ⁷ G. Kainz, Mikrochem. 38, 124 (1951).
- ⁸ H. Ballczo und G. Mondl, Mikrochem. 36/37, 1002 (1951).
- ⁹ G. Brunisholz und J. Michod, Helv. Chim. Acta 37, 598 (1954).
- ¹⁰ G. Schwarzenbach, Die chemische Analyse. Bd. 45: Die komplexometrische Titration, Stuttgart: F. Enke. 1955.
- ¹¹ H. Flaschka, Fortschr. chem. Forsch., 3, 253 (1955).

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/48.

Zeilenanzahl: 313.

Spektrophotometrische Messung an kleinsten Flüssigkeitsmengen.

Von

G. Hansen, Oberkochen.

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 12. April 1955.)

Voraussetzungen und Fragestellung.

Zur Ausführung einer spektrophotometrischen Absorptionsmessung gehören: Ein Sender, bestehend aus Strahlungsquelle mit Filtereinrichtung, ein Strahlungsempfänger mit Anzeigergerät und zwischen beiden ein Behälter zur Aufnahme der zu messenden Flüssigkeit. Je geringer die Extinktion der Flüssigkeit ist, desto größer wird die Schichtlänge genommen werden müssen, damit eine angemessene Genauigkeit bei der Bestimmung der Extinktion der Lösung und der Konzentration der absorbierenden Substanz erreicht werden kann. Wenn also die Substanzmenge vorgeschrieben ist, an der gemessen werden soll, wird die Frage nach der größten Schichtlänge zu stellen sein, an der eine Messung ausgeführt werden kann. Wir wollen untersuchen, ob es bei einer gegebenen Anordnung möglich ist, durch geschickte Maßnahmen das Volumen immer weiter zu verkleinern bzw. die Schichtlänge immer weiter zu vergrößern oder ob durch gesetzmäßige Beziehungen zwischen den Abmessungen der Anordnung dem Volumen eine Grenze gezogen ist, die auf keine Art unterschritten werden kann. Wir wollen im folgenden immer annehmen, daß ein kreiszylindrisches Rohr verwendet wird. Durch Benutzung anderer Gefäßformen läßt sich das Volumen verkleinern. Bei Verwendung äußerst kleiner Substanzmengen ist aus praktischen Gründen nur die Verwendung kreiszylindrischer Rohre diskutabel.

Betrachten wir eine Figur, die vor längerer Zeit in einer amerikanischen Zeitschrift¹ veröffentlicht wurde, um eine Methode darzustellen, nach der man kleine Präzisionsküvetten verwenden könne. Die Küvette steht zwischen zwei kleinen Linsen 3 und 4, die Lichtquelle wird von 1 durch einen großen Kondensor an den Ort 2 in etwa gleicher Größe abgebildet. Dies geschieht offenbar nur, um mit dem Bild der Lichtquelle genügend nahe an die kurzbrennweitige Linse 3 heranzukommen. Das wäre mit der Lampe selbst nicht möglich, weil der Glaskolben der Glühlampe einen zu großen Durchmesser hat. Die Linse 4 erzeugt wiederum ein Bild der Lichtquelle dicht vor der Photozelle 5. Diese Darstellung könnte einen leicht auf den Gedanken bringen, daß man den Durchmesser der Linsen 3 und 4 beliebig verkleinern und den Abstand zwischen beiden Linsen auch beliebig vergrößern kann, daß man also bezüglich der Verkleinerung des Durchmessers der Küvette und der Vergrößerung ihrer Länge keinerlei Beschränkungen unterworfen ist. Daß die Dinge nicht so einfach liegen, erkennt man, wenn man Grenzstrahlenbüschel zeichnet, die nicht — wie die ausgezogenen Strahlen — nur zur Mitte der Lichtquelle gehören, sondern zu ihrem Rand. Die gestrichelten Strahlen gehen von dem unteren Rand der Lichtquelle bei 2 aus. Man sieht, daß diese Lichtstrahlen die Linse 4 überhaupt nicht erreichen, also auch nicht zur Beleuchtung der Photozelle beitragen können. Wir werden sehen, daß zwischen den Abmessungen der Küvette und dem Lichtstrom, der den Strahlungsempfänger trifft, Beziehungen bestehen, die bei dem Entwurf von Spektralphotometern berücksichtigt werden müssen.

Filterphotometer.

Betrachten wir zunächst einen sehr einfachen Fall — den eines Filterphotometers, bei dem also die Auswahl eines beschränkten Spektralbereiches aus der Strahlung der Lichtquelle durch ein Absorptionsfilter erfolgt. Dieser Fall ist deshalb einfach, weil das Absorptionsfilter, das man leicht in beliebiger Größe herstellen kann, in geometrischer Hinsicht keinerlei Beschränkungen für die übrigen Teile der Anordnung bedingt. Bei gegebener Empfindlichkeit des Empfängers und des Anzeigegegerätes ist ein bestimmter Mindest-Lichtstrom vorgeschrieben, der Vollausschlag am Anzeigegegerät gibt, also die Ausnutzung der vollen Meßgenauigkeit ermöglicht. Dieser Lichtstrom ist proportional mit der Leuchtdichte B der Lichtquelle, außerdem hängt er von den geometrischen Verhältnissen der Anordnung ab:

$$\Phi = B \cdot A.$$

Hierbei soll die Größe A — der Lichtleitwert — die geometrischen Verhältnisse beschreiben. Zwischen A und den Abmessungen des Substanzrohres besteht eine Beziehung, die wir durch das Volumen V , die Schichtlänge s und das Brechungsvermögen n der Substanz ausdrücken:

$$A = \frac{n^2 V^2}{s^4} = \frac{\Phi}{B}.$$

Bei dieser Anordnung begrenzt die Küvette selbst den Lichtstrom. Wenn der Mindest-Lichtstrom, der zur Messung gebraucht wird, ebenso vorgeschrieben ist wie die Leuchtdichte der Lichtquelle, so ist damit zwischen dem Volumen und der Schichtlänge eine feste Beziehung gegeben. Nehmen wir an, daß wir als Lichtquelle eine Glühlampe mit einer Leuchtdichte von 10^3 Stilb verwenden, als Filter ein Grünfilter der Art des S 55 mit einer Halbwertsbreite von $220 \text{ \AA}$ und einem Gesamtdurchlaßgrad von $\frac{1}{2000}$. Dann ist für die Leuchtdichte B zu setzen

$$\frac{10^3}{2000} = \frac{1}{2}.$$

Wenn als Empfänger ein Photoelement mit einer Empfindlichkeit von $300 \mu\text{A/Lumen}$ und als Anzeigeinstrument ein Zeigerinstrument verwendet werden soll, das bei einem Strom von $20 \mu\text{A}$ den Vollausschlag anzeigt, brauchen wir einen Lichtstrom von

$$\frac{20}{300} = \frac{1}{15} \text{ lm.}$$

Wir erhalten zwischen dem Volumen und der Schichtlänge die Beziehung:

$$V = \frac{s^2}{n} \sqrt{\frac{\Phi}{A}} = \frac{s^2}{n} \sqrt{\frac{\Phi}{B}} = \frac{s^2}{1,33} \sqrt{\frac{2}{15}} = s^2 \cdot \frac{1}{1,33 \cdot 2,74} = s^2 \cdot 0,27,$$

das heißt also, wenn wir eine Schichtlänge von 10 cm verwenden wollen, brauchen wir zur Füllung der Küvette 27 ml .

Betrachten wir als zweites Beispiel die Verwendung einer Quecksilberlampe, bei der sich die grüne Linie mit einer guten Ausbeute herausfiltern läßt. Wir können hier für die Strahlungsdichte annehmen:

$$B^* = 0,2 \left[\frac{W^*}{\text{cm}^2 \cdot \omega} \right]$$

B^* bedeutet die Strahlungsleistung, angegeben in Watt für die Einheit der strahlenden Fläche und des Raumwinkels. Dementsprechend müssen wir auch für die Zellenempfindlichkeit die spektrale Empfindlichkeit in Amp/W Strahlungsleistung verwenden. Bei einem Selen-Photoelement ist sie im Grünen etwa $0,1$. Wenn wir für das Filter einen Durchlaßgrad von $\frac{1}{3}$ annehmen, erhalten wir zwischen Volumen und Schichtlänge die Beziehung:

$$V = s^2 \cdot 0,045.$$

Hier reicht also zur Füllung einer Küvette von 10 cm Länge schon ein Volumen von $4,5 \text{ ml}$ aus. Eine weitere Verringerung des Volumens wäre

nur möglich durch Verwendung empfindlicherer Empfänger oder bei Benutzung einer Glühlampe durch Verwendung wirksamerer Mittel zur spektralen Zerlegung der Strahlung.

Wenn als Lichtquelle eine Glühlampe oder Quecksilberlampe mit Farbfilter angenommen wird, als Empfänger ein Selenphotoelement mit einem Meßinstrument bestimmter Stromempfindlichkeit, so erhalten wir einen Zusammenhang zwischen Schichtlänge und Volumen der Küvette, der jeder Schichtlänge das zur Füllung der Küvette notwendige Volumen zuordnet. Bei Verwendung eines kleineren Volumens würde die Empfindlichkeit der Anordnung nicht voll ausgenutzt werden, dagegen würde die Benutzung einer größeren Küvette keinen Gewinn bringen; denn schon mit der durch die Formel angegebenen Küvettengröße wird der volle Ausschlag des Meßinstrumentes erreicht.

Monochromator.

Wenn an die Stelle des Absorptionsfilters ein optisches Instrument — ein Monochromator — tritt, so ist nicht mehr die Küvette mit ihren geometrischen Abmessungen für die Größe des Lichtstromes allein bestimmend, auch der Monochromator hat einen bestimmten Lichtleitwert. Küvette und Monochromator müssen nach einfachen Regeln durch abbildende Linsen miteinander verbunden werden. Von dem Lichtleitwert des Monochromators, der im allgemeinen mit rechteckigen Spalten verwendet wird, können wir bei kreiszylindrischen Küvetten nur den Teil ausnutzen, der quadratisch geformten Spalten entspricht. Die verschiedenen Teile einer komplizierten optischen Anordnung müssen stets den gleichen Lichtleitwert haben, da der Bestandteil mit dem kleinsten Lichtleitwert bestimmend für die Wirksamkeit der gesamten Anordnung ist. Wir nehmen an, daß am Prisma oder am Gitter des Monochromators das Lichtbündel einen quadratischen Querschnitt hat, ferner, daß für diejenige Wellenlänge, für die wir die Abmessungen der Anordnung bestimmen wollen, der Spalt des Monochromators ebenfalls quadratische Form hat. Wir nutzen bei einer solchen Anordnung den Lichtleitwert des Substanzrohres nicht voll aus, sondern nur das Volumen, das ein dem Zylinder einbeschriebenes Rohr von quadratischem Querschnitt haben würde. Das Volumen V' , das wir zur Füllung des zylindrischen Rohres benötigen, ist also größer als das optisch ausgenutzte Volumen V :

$$\frac{2}{\pi} \cdot \frac{nV'}{s^2} = \sqrt{A_0}.$$

Das Symbol A_0 soll bedeuten, daß der Monochromator mit quadratischem Spalt verwendet wird. Welches ist nun der Lichtleitwert des Monochromators? Man kann die Eigenschaften des Monochromators auf verschiedene Weise beschreiben. Am einfachsten ist es, wenn man diejenige Größe verwendet, die auch in anderer Beziehung für seine Leistung bestimmend ist, nämlich das Auflösungsvermögen (AV). Diesem Auflösungsvermögen ist der Lichtleitwert stets proportional, ferner ist der Lichtleitwert der Größe des jeweils benutzten Spektralbereiches $\Delta\lambda$, der von der eingestellten Spaltbreite abhängig ist, proportional. Die Spaltlänge l selbst tritt dabei in der Form der sogenannten reduzierten Spaltlänge auf. Die reduzierte Spaltlänge ist das Verhältnis der tatsächlichen Spaltlänge zu der Öffnungszahl k des Monochromators. Diese Öffnungszahl wiederum ist das Verhältnis der Brennweite des Austrittsrohres zu der Breite des Bündels am Prisma:

$$A = AV \cdot \Delta\lambda \cdot \frac{l}{k}.$$

Wenn wir einen quadratischen Spalt verwenden, also die Länge des Spaltes gleich seiner Breite machen, tritt naturgemäß die Spaltlänge nicht mehr auf. Dann ist der Lichtleitwert:

$$A_0 = (\Delta\lambda' \cdot AV)^2.$$

Hier ist also $\Delta\lambda'$ die Breite desjenigen Spektralbereiches, der nunmehr den quadratischen Spalt verläßt.

Zur Bestimmung des Lichtstromes, der aus dem Monochromatorspalt

austritt, müssen wir jetzt anstelle der vorher verwendeten Strahlungsdichte B^* das Produkt aus der spektralen Strahlungsdichte B_{λ}^* und der Breite des Spektralbereiches $\Delta\lambda$ verwenden. Demnach ist also jetzt die Strahlungsleistung:

$$\phi = B_{\lambda}^* \cdot \Delta\lambda \cdot A.$$

Die Empfindlichkeit eines gegebenen Spektralphotometers wird beschrieben durch die Größe des Spektralbereiches $\Delta\lambda$, der gerade zur Erzielung des Vollausschlages am Meßinstrument ausreichend ist. Diese Angabe bezieht sich auf die Verwendung der vollen am Monochromator vorhandenen Spaltlänge l . Wir fragen jetzt nach der Größe des Spektralbereiches $\Delta\lambda'$, der bei Benutzung eines quadratischen Spaltes die gleiche Strahlungsleistung liefert. Zur Berechnung dieses $\Delta\lambda'$ haben wir also gleichzusetzen:

$$\phi^* = B_{\lambda}^* \cdot \Delta\lambda^2 \cdot AV \cdot \frac{l}{k} = B_{\lambda}^* \cdot \Delta\lambda'^3 \cdot AV^2,$$

so daß wir zur Berechnung von $\Delta\lambda'$ erhalten:

$$\Delta\lambda'^3 = \Delta\lambda^2 \cdot \frac{l}{k} \cdot \frac{1}{AV}.$$

Wenn wir daraus die Spaltbreite berechnen wollen, können wir die Beziehung zwischen der Spaltbreite σ , der Größe des Spektralbereiches $\Delta\lambda'$ und den schon bekannten Größen: Öffnungszahl und Auflösungsvermögen benutzen:

$$\sigma = \Delta\lambda' \cdot k \cdot AV.$$

Wir können auch diese Spaltbreite unmittelbar ausdrücken durch den Spektralbereich $\Delta\lambda$, der für die Spaltlänge l Vollausschlag liefern würde:

$$\sigma = \sqrt[3]{(\Delta\lambda \cdot AV)^2 \cdot k^2 \cdot l}.$$

Wenn wir für ein größeres Spektralintervall σ zu bestimmen haben, so müssen wir das für diejenige Wellenlänge tun, bei der wir innerhalb des gesamten Bereiches die größte Spaltbreite benötigen. Das muß also die Wellenlänge sein, bei der das Produkt aus $\Delta\lambda$ und dem Auflösungsvermögen seinen größten Wert hat. Bei jeder anderen Wellenlänge ist die Höhe des Spaltes σ die gleiche. Die Breite dagegen, die wir brauchen, um Vollausschlag zu erzielen, ist stets kleiner als σ . Wenn wir bei einer solchen Wellenlänge die Größe des Spektralbereiches $\Delta\lambda'$ errechnen wollen, so haben wir dafür:

$$\frac{\Delta\lambda}{\Delta\lambda'} = \sqrt{\frac{l}{\sigma}}.$$

Es ist also das Verhältnis des $\Delta\lambda'$ zu dem $\Delta\lambda$, das für volle Spaltlänge l gilt, in dem ganzen Bereich das gleiche.

Beispiel zu Monochromator.

Sehen wir uns nun an einem Beispiel an, wie die Verhältnisse bei einem handelsüblichen Spektralphotometer liegen. Wir betrachten das neue Zeiß-Spektralphotometer P M Q II. Wir wollen mit der Glühlampe in dem ganzen Bereich zwischen 3500 und 10000 Å mit Quarzprisma messen. Der größte Wert von $\Delta\lambda \cdot AV$ ist bei 3500 Å vorhanden. Hier brauchen wir 4,0 Å, um Vollausschlag zu erzielen. Daraus errechnet sich ein $\Delta\lambda$ von 31 Å und für diese Wellenlänge ein quadratischer Spalt mit der Kantenlänge von 0,24 mm. In der folgenden Tabelle sind die Werte von $\Delta\lambda$ und $\Delta\lambda'$ für den ganzen Bereich zusammengestellt:

λ	$\Delta\lambda$	$\Delta\lambda'$
3500	4,0	31
4000	2,5	19
4500	2,2	17
5000	2,1	16
5500	2,3	18
6000	2,6	20
7000	18	140
8000	17	130
9000	20	150
10000	22	170

Zwischen dem Volumen V' und der Schichtlänge besteht hier folgende Beziehung:

$$V' = s^2 \cdot 0,0023.$$

Bei 10 cm Schichtlänge ist also nur ein Volumen von 0,23 ml notwendig.

Noch günstiger liegen die Verhältnisse, wenn wir nur bei einer einzigen Wellenlänge innerhalb dieses Spektralbereiches messen wollen. Wenn die Messung beispielsweise bei 5500 Å vorgenommen werden soll, wo bei voller Spatlänge von 1,4 cm ein Bereich von 2,3 Å zur Messung ausreichend wäre, erhalten wir einen quadratischen Spalt von 0,07 mm Kantenlänge, was einem Spektralbereich von 33 Å entspricht. Zwischen Volumen und Schichtlänge besteht jetzt die Beziehung:

$$V = s^2 \cdot 0,0007.$$

Hier ist also bei 10 cm Schichtlänge ein Volumen von weniger als 0,1 ml notwendig.

Ausführung der Anordnung.

Diese Betrachtungen sollen zeigen, welches das kleinste Volumen ist, mit dem man bei gegebener Schichtlänge an dem als Beispiel gewählten Spektralphotometer messen kann und wie man aus den bekannten Eigenschaften des Instrumentes die Beziehung zwischen Volumen und Schichtlänge berechnet. Es ist noch etwas über die Art der Anordnung zu sagen. Im Prinzip ist die optische Einrichtung sehr einfach. Der Lichtstrom, der vom Monochromator geliefert wird, muß durch die Küvette hindurchgeleitet werden. Dazu ist nur notwendig, daß man die beiden den Lichtstrom im Monochromator begrenzenden Öffnungen auf die beiden Rohrenden abbildet, also den Spalt auf das eine Rohrende und die Prismenöffnung auf das andere. Hierzu sind grundsätzlich zwei Linsen ausreichend, von denen die eine dicht am Spalt, die andere an dem dem Spalt zugewandten Ende des Absorptionsrohres angebracht ist. Damit man mit Rohren von so geringem Querschnitt, wie sie hier aus energetischen Gründen verwendet werden können, überhaupt umgehen kann, müßten natürlich geeignete Hilfsmittel vorgesehen sein, um das Rohr zum Monochromator auszurichten und dafür zu sorgen, daß die Bilder der Blenden des Monochromators symmetrisch zu den Rohröffnungen liegen. Besondere Schwierigkeiten wird unter Umständen das Füllen des Rohres und das luftdichte Verschließen bereiten, insbesondere dann, wenn nur ein Flüssigkeitsvolumen zur Verfügung steht, das um wenig größer ist als es zum Füllen der Küvette gebraucht wird. Das Ziel der Darstellung war aber vornehmlich zu ermitteln, welches die Grenzen der Leistungsfähigkeit eines solchen Mikro-Spektralphotometers sind.

Zusammenfassung.

Bei jeder spektrophotometrischen Meßeinrichtung ist das Volumen aller Küvetten, die den gleichen Lichtstrom hindurchtreten lassen, proportional mit dem Quadrat der Küvettenlänge. Der Proportionalitätsfaktor hängt bei Filterphotometern nur von den Eigenschaften von Lichtquelle und Empfänger ab, bei Verwendung eines Monochromators außerdem von den Abmessungen des Monochromators, im wesentlichen von seinem Auflösungsvermögen. Bei handelsüblichen Spektralphotometern ist es im Grünen möglich, bei 10 cm Schichtlänge mit einem Volumen von weniger als 0,1 ml ohne Einschränkung der Meßgenauigkeit auszukommen.

Summary.

In every spectrophotometric measuring device the volume of all cells, which permit the passage of the same light flux, is proportional to the square of the length of the cell. In the case of filter photometers, the proportionality factor depends solely on the characteristics of the light source and receiver; if a monochromator is used also on the dimensions of the monochromator, and essentially on its resolving powers. With the spectrophotometers on the market, it is possible in the green, when using a 10 cm path length, to get along with a volume of less than 0.1 ml without decreasing the precision of measurement.

Literatur.

¹ R. B. Withrow, C. L. Shreusbury and H. R. Kraybill, Ind. Eng. Chem.,
Analyt. Ed. 8, 214 (1936).

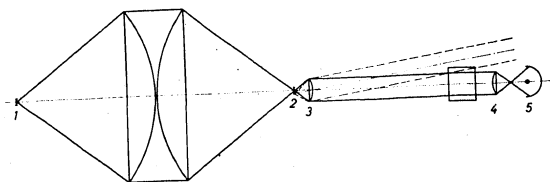


Abb. 1. Beleuchtung von Küvetten mit kleinem Volumen.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/49.

Zeilenanzahl: 306.

Fisons Pest Control Ltd., Chesterford Park Research Station, Near Saffron
Walden, Essex, England.

Methoden zur Rückstandsbestimmung von Insektiziden in pflanzlichem Material.

Von

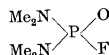
I. Otter.

Mit 2 Abbildungen.

(Eingelangt am 14. April 1955.)

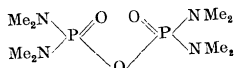
Die toxischen Eigenschaften der als Insektizide verwendeten Verbindungen erstrecken sich in ihrer Wirkung auch auf höhere Lebewesen. Es ist daher von großer Wichtigkeit, damit behandelte Pflanzen, die als Genuß- oder Futtermittel in Betracht kommen, mit Sicherheit auf Rückstände dieser Verbindungen prüfen zu können. Zu diesem Zwecke wurden in den Forschungslaboratorien unserer Firma Methoden für folgende Insektizide ausgearbeitet und an einer Reihe von Pflanzen mit Erfolg angewandt:

1. Bisdimethylaminofluorophosphinoyd



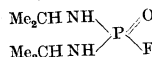
Dimefox genannt und im Handel als Hanane, S 14, oder Terra-sytam erhältlich.

2. Bisdimethylaminophosphorsäureanhydrid oder Octamethylpyrophosphoryltetraamid



Schradan genannt und im Handel als Pestox 3, Pestox 99, Sytam und Tetrax erhältlich.

3. Bis-(monoisopropylamino)-fluorophosphinoyd



Mipafox genannt und im Handel als Isopestox Capstiks erhältlich.

Es ist zu erwarten, daß die für diese Verbindungen ausgearbeiteten Methoden auch zur Bestimmung von anderen Insektiziden mit ähnlichen physikalischen und chemischen Eigenschaften herangezogen werden können.

Auf Grund der an Tierversuchen ermittelten Toxizität von *Schradan* wird als zulässige Grenze für diese Verbindung ein Gehalt von 3 p. p. m. in Genußmitteln allgemein angenommen.

Mipafox hat ähnliche toxische Wirkung; es ist daher zu erwarten, daß die zulässige Grenze für diese Verbindung in derselben Größenordnung festgesetzt wird.

Dimefox ist, verglichen mit diesen Verbindungen, erheblich giftiger, wird aber in kurzer Zeit von der Pflanze zu vollkommen harmlosen Verbindungen abgebaut. Die Grenze der tolerierbaren Rückstände ist zur Zeit noch immer Gegenstand von Erörterungen.

Bei der Ausarbeitung unserer Methoden setzten wir uns das Ziel, eine Empfindlichkeit von 0,05 bis 0,1 mg/kg zu erreichen, und da der Großteil der Insektizide organische Phosphorverbindungen sind, schien es zweckmäßig, die Methoden auf die Bestimmung des Phosphors zu gründen.

Der erste, allen diesen Methoden gemeinsame Schritt besteht in der vollständigen Extraktion des Insektizids aus dem Untersuchungsmaterial. Diese wird mit Chloroform durchgeführt und jeweils auf die Art des Untersuchungsmaterials und die zur Verfügung stehenden Hilfsmittel abgestimmt. Die Vollständigkeit der Extraktion läßt sich durch einen Modellversuch mit radioaktiven Insektiziden am Geiger-Müller-Zähler überprüfen. Einige dieser Extraktionsmethoden werden später an Hand von Beispielen angeführt.

Die Extrakte enthalten erhebliche Mengen an chloroformlöslichen, natürlichen Phosphorverbindungen. Deren Menge schwankt nicht nur von Pflanze zu Pflanze, sondern hängt auch weitgehend vom Entwicklungsstadium der extrahierten Pflanzenteile ab. Es ist daher notwendig, das zu bestimmende Insektizid möglichst quantitativ davon abzutrennen. Dies ist in einfacher Weise durch eine Mikrodestillation zu erreichen.

Wie unsere Versuche zeigten, ist es möglich, Mengen von 30 μg *Mipafox* und *Schradan* in dem dafür modifizierten Mikrosublimationsapparat nach Klein und Werner¹ (Abb. 1) mit über 90% Ausbeute zu destillieren.

Destillation des Mipafox.

Den gesammelten Chloroformextrakt bringt man in das Destillationsgefäß, verbindet dessen seitlichen Ansatz mit einem Kühler, verschließt die obere Öffnung mit einem Schliffstopfen und destilliert den Großteil des Chloroforms ab. Man entfernt dann den Kühler, fügt einige Glasringe zur Verhütung eines Siedeverzuges zu und erwärmt am Wasserbad, um Reste von Chloroform zu vertreiben. Nun verschließt man das Gefäß mit einem Schliffstopfen und evakuiert langsam an der Wasserstrahlpumpe. Zur Destillation ersetzt man den Schliffstopfen durch den peinlich gereinigten Kühlfinger und verbindet den seitlichen Ansatz mit der Ölpumpe. Die Destillation wird bei 1 mm Hg auf einem auf 60 bis 70°C erwärmten Wasserbad ausgeführt und ist nach 25 Minuten beendet. Man unterbricht das Vakuum, entfernt das Wasserbad, nimmt den Kühlfinger vorsichtig heraus und wäscht ihn mit ungefähr 10 ml Chloroform (p. a.) quantitativ. Nach Zusatz von 5 ml 30 volumprozentiger Schwefelsäure dampft man das Chloroform in einem Kjeldahlkölbchen ab, setzt 5 ml 10%ige Ammoniumpersulfatlösung zu und verascht. Bei nicht vollständiger Entfärbung der Lösung setzt man ein bis zwei Tropfen Wasserstoffperoxyd zu. Zur Hydrolyse verdünnt man mit dest. Wasser und dampft bis zum Auftreten der Schwefelsäureschwaden ein. In der so erhaltenen Lösung wird der Phosphor nach der Methode von *Berenblum* und *Chain*² kolorimetrisch bestimmt.

Destillation des Schradan.

Die Destillation wird im selben Apparat (Abb. 1) ausgeführt. Man verfährt wie bei der Bestimmung des *Mipafox* und destilliert bei 1 mm Hg am kochenden Wasserbad 45 Minuten.

Destillation des Dimefox.

Dimefox zeigt bei 25°C einen Dampfdruck von 0,36 mm Hg³. Eine Destillation dieser Verbindung in dem Apparat nach Abb. 1 führt leicht zu Verlusten. Um dies zu verhindern, wird die Destillation mit einem Gemisch von Glycerin und Äthylenglykol in dem dafür konstruierten Apparat nach Abb. 2 ausgeführt.

Zu den Extraktionsrückständen, die sich nach Abdestillieren des Chloroforms am Boden des kugelförmigen Gefäßes des Apparates (Abb. 2) befinden, fügt man 0,25 ml Glycerin und 1 bis 2 Tropfen Äthylenglykol, füllt das kugelförmige Gefäß bis zum Hals mit Fraktionierringen (Durchmesser ungefähr 3 mm) und schiebt in den Hals ein gebogenes Drahtnetz, das bei eventuellem Stoßen während der Destillation das Hinaufspringen der Ringe gegen den Kühler verhindert. Das gefüllte Destillationsgefäß verschließt man mit einem Schliffstopfen und evakuiert vorsichtig an der Wasserstrahlpumpe. Nun ersetzt man den Schliffstopfen durch den Kühlfinger und führt die Destillation auf einem auf 180° bis 200°C erhitzten Glycerinbad an der Wasserstrahlpumpe aus. Nach 10 Minuten entfernt man das Glycerinbad, läßt abkühlen und wäscht den Kühlfinger

quantitativ mit dest. Wasser. Zu 10 ml wäßriger Lösung fügt man 4 ml 1-n Perchlorsäure und hält die Lösung 30 Minuten im Thermostat bei 25° C. Anschließend extrahiert man zweimal mit dem gleichen Volumen Chloroform. Den wäßrigen Rückstand, der den Phosphor des Dimefox als phosphorige und fluorophosphorige Säure enthält, bringt man in ein Kjeldahlkölbchen, setzt 4 ml n Schwefelsäure zu und verfährt weiter wie bei der Bestimmung des Schradsan und Mipafox. Die kontrollierte Hydrolyse gestattet, Dimefox von Tridimethylaminophosphorsäure, einer Begleitsubstanz der im Handel erhältlichen Dimefox-Produkte, zu trennen. Die Ausbeute der Destillation für 30 µg Dimefox beträgt 95 bis 100%.

Die Untersuchung von pflanzlichem Material.

Kohlsprossen.

50 g Kohlsprossen werden mit 5 ml 1-n Natronlauge und 25 bis 50 ml technischem Chloroform mazeriert. Nur Mazeratoren mit einem Antrieb von oben sind für direktes Mazerieren mit Chloroform geeignet. Falls ein solcher nicht zur Verfügung steht, ist es besser, einen wäßrigen Auszug zu bereiten und diesen mit Chloroform zu extrahieren, was allerdings mehr Zeit und größere Mengen Chloroform erfordert. Das Mazerat extrahiert man mit Chloroform 1 bis 2 Stunden im Soxhletapparat. Den Chloroformextrakt bringt man in den Mikrodestillationsapparat (Abb. 1) und führt die Destillation und Bestimmung nach der beschriebenen Methode (Schradsan) aus.

Die erhaltenen Blindwerte aus 50 g Kohlsprossen entsprechen 0,3 bis 0,8 µg Phosphor (0,03 bis 0,07 p. p. m. Schradsan). Die in Klammer angeführten Blindwerte wurden praktisch ermittelt, es ist jedoch anzunehmen, daß sie auch mit den Destillationsmethoden für die anderen Verbindungen in derselben Größenordnung liegen.

Zitronen.

a) Schalen:

25 g Zitronenschalen werden mit 30 ml dest. Wasser mazeriert. Das Mazerat wird in einer Reibschale mit Trockeneis zerrieben und nach dem Auftauen zentrifugiert. Den festen Anteil bringt man in eine Extraktionshülse und extrahiert 1 Stunde mit Wasser. Die vereinigten wäßrigen Auszüge extrahiert man mit Chloroform. Den so erhaltenen Chloroformextrakt verarbeitet man wie üblich. Der erhaltene Blindwert für 25 g Zitronenschalen entspricht 0,5 bis 0,75 µg Phosphor (0,12 p. p. m. Schradsan).

b) Frucht:

50 g geschälte Zitronen werden mit 2 bis 3 g Natriumacetat und Wasser mazeriert. Das Mazerat wird wie das der Zitronenschalen weiterverarbeitet. Der erhaltene Blindwert für 50 g Zitronenfruchtfleisch entspricht 0,9 bis 1,2 µg Phosphor (0,08 bis 0,1 p. p. m. Schradsan).

Orangen.

a) Schalen:

1. 25 g Orangenschalen werden mit 30 ml technischem Chloroform mazeriert. Das Mazerat wird zentrifugiert, den festen Anteil bringt man in eine Extraktionshülse und extrahiert mit Chloroform eine Stunde im Soxhletapparat. Mit den vereinigten Chloroformextrakten verfährt man weiter, wie vorher beschrieben. Der erhaltene Blindwert für 25 g Orangenschalen entspricht 0,3 µg Phosphor (0,05 p. p. m. Schradsan).

2. 50 g Schalen werden mit Trockeneis in einer Reibschale zerrieben, nach dem Auftauen erwärmt man unter Rückflußkühlung am Wasserbad, hebert das Chloroform nach 10 Minuten ab und ersetzt es durch frisches; dies wiederholt man dreimal. Die vereinigten Chloroformextrakte werden wie üblich weiterverarbeitet. Der Blindwert für 50 g Orangenschalen entspricht 0,5 µg Phosphor (0,05 p. p. m. Dimefox).

b) Frucht:

1. 50 g Orangenfruchtfleisch werden mit 30 ml technischem Chloroform und 2 bis 3 g Natriumacetat mazeriert. Das so erhaltene Mazerat wird wie das der Schalen (1.) weiterverarbeitet. Der Blindwert für 50 g Orangenfruchtfleisch entspricht 0,28 µg Phosphor (0,025 p. p. m. Schradsan).

2. 100 g Orangenfruchtfleisch werden mit 2 bis 3 g Natriumacetat und Trockeneis in einer Reibschale zerrieben und wie die Schalen in (2.) weiterverarbeitet. Der Blindwert für 100 g Orangenfruchtfleisch entspricht 0,1 bis 0,3 µg Phosphor (0,005 bis 0,015 p. p. m. Dimefox).

Zuckerrüben und Rüben.

50 g Zuckerrüben oder Rüben werden mit 5 ml 1-n Natronlauge und 30 ml technischem Chloroform mazeriert. Das Mazerat wird zentrifugiert und der feste Anteil im Soxhletapparat mit Chloroform extrahiert. Der

Chloroformextrakt wird wie üblich weiterverarbeitet. Der Blindwert für 50 g Rüben oder Zuckerrüben entspricht 0,2 bis 0,5 μg Phosphor (0,02 bis 0,05 p. p. m. Dimefox).

Tomaten und Gurken.

50 g Tomaten oder Gurken werden mit 30 ml technischem Chloroform mazeriert, das Mazerat zentrifugiert und der feste Rückstand in einer Reibschale mit Trockeneis und 30 ml Chloroform zerrieben. Nach dem Aufläuen wird abermals zentrifugiert und der feste Rückstand mit Chloroform gewaschen. Die vereinigten Chloroformextrakte werden wie üblich weiterverarbeitet. Der Blindwert für 50 g Tomaten entspricht 0,4 μg Phosphor (0,05 p. p. m. Mipafox). Der Blindwert für 50 g Gurken entspricht 0,2 μg Phosphor (0,02 p. p. m. Mipafox).

Die in den Tabellen 1, 2 und 3 angegebenen Werte entsprechen dem Zusatz einer gemessenen Menge Insektizid vor dem Mazerieren des Untersuchungsmaterials. Wie aus den Blindwerten und den gefundenen Werten zu ersehen, ist es möglich, einen Gehalt von 0,1 p. p. m. Insektizid noch einwandfrei festzustellen.

Analysenergebnisse aus pflanzlichem Material nach Zusatz gemessener Mengen Insektizid.

Tabelle 1. Schradan.

Untersuchtes Material	p. p. m. Schradan		% gefunden
	zugesezt	gefunden	
Kohlsprossen	0,52	0,48	92
	0,52	0,49	94
	0,67	0,60	89
	0,67	0,61	90
	1,83	1,63	89
	1,83	1,67	91
Zitronen:			
a) Frucht	0,25	0,15	60
	0,78	0,60	77
	0,78	0,58	74
b) Schalen	0,50	0,42	84
	0,50	0,34	68
	1,55	1,23	79
Orangen:			
a) Frucht	0,84	0,65	77
	0,84	0,62	73
	0,59	0,42	70
b) Schalen	1,68	1,28	77
	1,68	1,20	72
	1,18	0,89	75
	1,18	0,79	67

Tabelle 2. Mipafox.

Untersuchtes Material	p. p. m. Mipafox		% gefunden
	zugesezt	gefunden	
Tomaten	0,58	0,51	87
	0,58	0,49	85
	1,44	1,23	85
	1,16	0,99	86
	2,88	0,27	94
Gurken	0,32	0,30	76
	0,32	0,24	76
	0,64	0,57	89
	0,64	0,64	100
	1,96	0,18	91
	1,96	0,18	91

Tabelle 3. Dimefox.

Untersuchtes Material	p. p. m. Dimefox		% gefunden
	zugesezt	gefunden	
Orangen:			
a) Frucht	0,3	0,21	73
	0,3	0,23	76
b) Schalen	0,6	0,50	84
	0,6	0,53	88
Rüben			
	0,93	0,75	80
	0,67	0,59	88
	0,67	0,62	92
	0,37	0,32	88
	0,37	0,35	96
Zuckerrüben			
	0,39	0,36	92
	0,39	0,37	93
	0,95	0,92	97
	0,95	0,89	94

Bei Serienuntersuchungen kann eine geschulte Arbeitskraft fünf bis sechs Rückstandsanalysen an einem Arbeitstag ausführen.

Ich danke an dieser Stelle Dr. G. S. Hartley für sein reges Interesse an diesen Arbeiten, Dr. D. F. Heath für die Informationen über die physikalischen und chemischen Eigenschaften der geprüften Insektizide, Dr. A. Zeller für wertvolle Anregungen und den Direktoren von Fisons Pest Control Limited für die freundliche Erlaubnis und Gelegenheit, im Rahmen der Mikrochemie-Tagung darüber sprechen zu können.

Zusammenfassung.

Es wurden Methoden zur Rückstandsbestimmung von organischen, phosphorhaltigen Insektiziden in pflanzlichem Material ausgearbeitet, um einen Gehalt von weniger als 0,1 p. p. m. dieser Verbindungen mit Sicherheit zu erfassen. Diese Methoden bestehen aus einer auf das Untersuchungsmaterial abgestimmten Chloroformextraktion, der Trennung der Insektizide von den chloroformlöslichen natürlichen Phosphorverbindungen durch eine Mikrodestillation und der Ermittlung des Gehaltes an Insektizid durch kolorimetrische Bestimmung des Phosphors.

Summary.

Methods for residue analyses of organophosphorus insecticides in plant material are described, whereby the presence of less than 0.1 p. p. m. of these compounds may be correctly estimated. The working procedure is based on a chloroform extraction of the plant material, followed by the separation by microdistillation of the insecticide from the naturally occurring chloroform-soluble phosphorus compounds and a colorimetric determination of the phosphorus of the insecticide.

Literatur.

- ¹ G. Klein, Handbuch der Pflanzenanalyse. I. Bd. Wien: J. Springer. 1931. S. 317.
- ² I. Berenblum und E. Chain, Biochemic. J. **32**, 295 (1938).
- ³ W. Ripper, 3rd Intern. Congr. of Crop Protection, Paris. 1952.

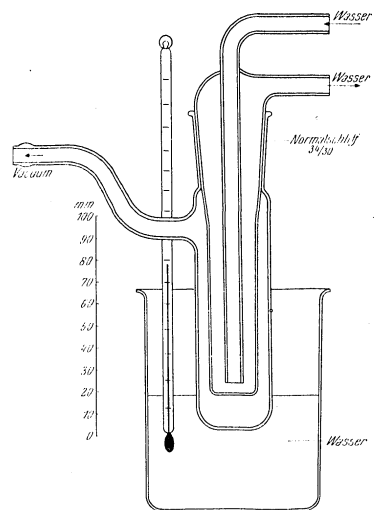


Abb. 1. Mikrosublimationsapparat nach Klein und Werner modifiziert zur Mikrodestillation.

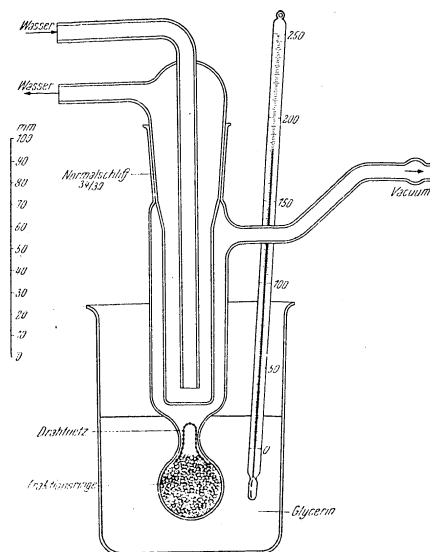


Abb. 2. Mikrodestillationsapparat.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/50.

Zeilenanzahl: 276.

Aus dem analytischen Laboratorium der Treibacher Chemischen Werke
A.-G., Treibach, Kärnten.

Eine photometrische Bestimmung des Samariums in Ceriterdengemischen.

Von

Robert Rasin-Streden, Walter Dauschan und Otto Zemek.

Mit 5 Abbildungen.

(Eingelangt am 15. April 1955.)

Die Gruppe der Ceriterden umfaßt nach elektronentheoretischen Überlegungen die Elemente der Ordnungszahlen 57 bis 64, reicht also von La bis Gd. Nach der älteren Auffassung wurden Eu und Gd noch zu den Yttererden gezählt, da sie in den typischen Ceritmineralien kaum anzutreffen sind. Der Monazit, als wichtigstes Ceritmineral, enthält von dieser Gruppe die Glieder La, Ce, Pr, Nd und Sm, die sowohl gemeinsam als auch in einigen Einzelgliedern bedeutendes technisches Interesse erlangt haben. Dabei werden die Reinheitsanforderungen, die an die Einzelglieder gestellt werden, ständig hinaufgesetzt.

Dementsprechend ergibt sich die Notwendigkeit einer ausreichenden analytischen Kontrolle der Ausgangs-, Zwischen- und Endprodukte. Die Schwierigkeiten, die sich dieser Aufgabe wegen der überaus großen chemischen Ähnlichkeit der einzelnen Glieder entgegenstellen, sind bekannt. Immerhin lassen sich Ce und Eu durch Überführung in andere Oxydationsstufen recht genau bestimmen, während für das Samarium eine präparative Abtrennung durch Amalgamreduktion von *Bruckl*¹ angegeben wurde. Sieht man von den emissionsspektralanalytischen und röntgenspektroskopischen Methoden, die umfangreiche Apparaturen und Eicharbeiten erfordern, ab, so bleiben für die Bestimmung von Pr, Nd und Sm nur die Methoden der Absorptionsspektralanalyse, während für die Bestimmung des Lanthans, das kein Absorptionsspektrum besitzt, nur die indirekte Berechnung aus Gesamt oxyd minus Summe der bestimmmbaren Oxyde möglich ist.

Unter Verwendung spektralphotometrischer Verfahren, welche mit Monochromatoren kleiner Bandbreite und photoelektrischer Registrierung arbeiten, gelang *C. J. Rodden*² und in neuerer Zeit *Moeller* und *Brantley*³ die photometrische Bestimmung der sogenannten „bunten“ Erden. Wie einer von uns bereits 1944 zeigen konnte, gelingt die photometrische Bestimmung von Pr und Nd auch mit Hilfe des Pulfrich-Photometers⁴.

Wir hatten uns nun die Aufgabe gestellt, eine Sm-Bestimmung ebenfalls unter Verwendung des Pulfrich-Photometers auszuarbeiten, um dadurch nicht nur die direkte Bestimmung des Sm, sondern damit auch die indirekte Berechnung des La in den Erdgemischen zu ermöglichen. Das Absorptionsspektrum des Sm ist zwar wesentlich schwächer als jenes des Pr und Nd, gestattet aber immerhin noch den Nachweis von ca. 1 g Sm₂O₃ im Liter Chloridlösung, gemessen in 5 cm Schichtdicke.

Die Abb. 1 zeigt, daß von den drei Hauptbandengruppen des Sm die beiden längerwelligen wegen Koinzidenz mit starken Pr- und Nd-Banden für eine Bestimmung unbrauchbar sind, während die Bandengruppe mit Spitze bei 4016 Å nur durch eine Er-Bande gestört wird. Auch sehr hohe Eu-Konzentrationen könnten allenfalls stören. Jedoch treten diese beiden Elemente in den Ceriterden in der Regel nicht oder zumindest nicht in störenden Konzentrationen auf.

Bei Verwendung der erwähnten Bandengruppe mit Spitze bei 4016 Å gelingt die Messung mittels der monochromatischen Strahlung der Hg-

Linie 4047 Å als Meßlicht (HQE 41-Birne mit Filter Hg Cd 405 als Sperrfilter), was allerdings einige Schwierigkeiten mit sich bringt:

1. Bande und Hg-Linie liegen am violetten Ende des sichtbaren Spektrums und sind daher mit dem Auge nur schwer wahrzunehmen. Aus diesem Grunde ist das Gesichtsfeld im Photometer sehr dunkel und die Messung dementsprechend anstrengend. Auf jeden Fall muß man ein schwarzes Lichtschutztuch verwenden und die UV-Schutzgläser der Photometerlampe entfernen. Sehr vorteilhaft wäre hier die Verwendung eines lichtelektrischen Photometers (z. B. Elko II von Zeiß), falls ein entsprechendes Sperrfilter zur Verfügung steht.

2. Bandenschwerpunkt und Wellenlänge des eingestrahlenen Lichtes fallen nicht zusammen. Es ist deshalb keine Gültigkeit des Beerschen Gesetzes zu erwarten, da die Bande bei abnehmender Konzentration schwächer wird und gleichzeitig aus dem Bereich der Wellenlänge der monochromatischen Strahlung auswandert.

3. Selbst geringste Trübungen in der Meßlösung bewirken Streulichtbildung, deren Intensität mit abnehmender Wellenlänge zunimmt und bei dem verwendeten Violettfilter bedeutend werden kann. Absolut blanke Meßlösungen sind daher Voraussetzung für das Gelingen der Messung.

4. Die stets vorhandenen sehr geringen Eisen(III)-Mengen bewirken eine kontinuierlich ansteigende Extinktion im blauen und violetten Teil des Spektrums. Dieser Punkt, der die Hauptschwierigkeit bei der Ausarbeitung der Methode bildete, muß etwas genauer behandelt werden:

Die Abb. 2 zeigt die Farbkurve einer Eisen(III)-Lösung in 2-n Salzsäure, gemessen in 5-cm-Schicht. Als Abszisse ist die Wellenlänge mit den Filterschwerpunkten der Spektralfilter aufgetragen, während die Ordinaten die gemessenen Extinktionen darstellen. Man erkennt den steilen Anstieg der Extinktion, der im Blaugrün beginnt. Auf dem Violettfilter Hg 405 ist die Extinktion bereits so hoch, daß schon Konzentrationen von 1 mg Fe^{+3} /l starke Störungen bei der Sm-Bestimmung hervorrufen können. Daher werden schon Eisengehalte von 0,001%, wie sie in den Erdoxyden häufig vorhanden sind, die Bestimmung stark beeinträchtigen. Hierzu kommen dann noch die Eisengehalte, die selbst durch analysenreine Reagenzien eingeschleppt werden, so daß die Zuverlässigkeit der Messung schließlich vollkommen in Frage gestellt wird.

Da das Fe^{+2} im Gegensatz zu Fe^{+3} keine Extinktion auf Filter Hg 405 gibt, war es naheliegend, den Einfluß des Fe^{+3} durch Reduktion auszuschalten. Die in dieser Richtung geführten Versuche schlugen aber überraschenderweise fehl. Reine Eisenlösungen ließen sich vollkommen reduzieren, ebenso Lösungen, die neben dem Fe^{+3} bis zu 100 g Ce_2O_3 , Nd_2O_3 oder La_2O_3 /l enthielten. Hingegen ist es niemals gelungen, in Gegenwart von Pr-Ionen das Fe^{+3} vollständig zu reduzieren. Es bleibt stets ein gewisser Anteil Fe^{+3} unreduziert, der zwar bei abnehmender Eisenkonzentration bis zu einem Schwellenwert sinkt, aber nie null wird. Hierbei wurden folgende Reduktionsmittel versucht: schwefelige Säure, Zinn(II)chlorid, Hydroxylamin, Hydrazin, naszierender Wasserstoff. Der Grund für dieses eigenartige Verhalten des dreiwertigen Eisens in Gegenwart von Praseodym ist uns nicht bekannt. Eine Parallele hierzu bildet jedoch die von uns beobachtete Tatsache, daß Pr-Ionen die Fe-Rhodanidfärbung stabilisieren. Während in Pr-freien Lösungen von Erdoxyden die Fe-Rhodanidfärbung bald abbläßt — in Ce^{+3} -Lösungen kommt es überhaupt nicht zur vollen Entwicklung der Färbung —, tritt bei Anwesenheit von Pr in diesen Lösungen die volle Farbtiefe auf und die Färbung bleibt längere Zeit konstant. Pr wirkt hier demnach gleich stabilisierend wie bekanntlich die Zusätze von Wasserstoffperoxyd und Persulfat. Diese beiden eben geschilderten Tatsachen legen den Schluß nahe, daß den Pr-Ionen hierbei die Wirkung eines Oxydationskatalysators zukommt. Doch liegt für eine derartige Behauptung viel zu wenig Beobachtungsmaterial vor. Daher sollen lediglich die beobachteten Erscheinungen vermerkt werden.

Versuche, das Fe^{+3} durch anorganische oder organische Komplexbildner zu binden und auf diese Weise auszuschalten, verliefen ebenfalls erfolglos, desgleichen die Bemühungen, das Eisen an der Quecksilber-

kathode abzuscheiden.

Nachdem sämtliche Bemühungen, die Fe^{+3} -Extinktion zu beseitigen, negativ verlaufen waren, blieben nur mehr zwei Wege offen, die eine Bestimmung des Sm am Pulfrich-Photometer ermöglichen konnten. Die erste Möglichkeit war, das vorhandene Fe^{+3} photometrisch als Rhodanid mit einem geeigneten Spektralfilter zu bestimmen (Filter S 53). Dann mußte die Gesamtextinktion $\text{Fe} + \text{Sm}$ auf Filter Hg 405 ermittelt, die dem Eisengehalt entsprechende Extinktion einer besonderen Eichkurve entnommen und von der Gesamtextinktion abgesetzt werden. Versuchsreihen zeigten, daß dieser Weg im Prinzip gangbar war, jedoch alle Nachteile eines Differenzverfahrens aufwies. In ungünstigen Fällen können bei Anwesenheit von viel Eisen bzw. Neodym kleinere Sm-Mengen im Streubereich der Methode untergehen. Besonders ungünstig fällt schließlich der Umstand ins Gewicht, daß man hierbei das Samarium wohl berechnen, aber nicht sehen kann.

Die Methode wurde daher bald zu Gunsten der letzten Möglichkeit, der Ätherextraktion des Fe^{+3} , verlassen. Es zeigte sich aber, daß es nicht möglich war, das Fe^{+3} als Chlorid durch Ausschütteln mit Äther vollkommen zu entfernen, selbst bei Verwendung einer Apparatur zur kontinuierlichen Extraktion. Dagegen gelang schließlich die vollständige Entfernung des Fe^{+3} durch Ausäthern des Rhodanids. Die Bedingungen hierfür lassen sich wie folgt zusammenfassen:

1. Die optimale Salzsäurekonzentration für die Ätherextraktion ist 2-normal. Bei zu hoher oder zu niedriger Salzsäure-Konzentration geht das Eisenrhodanid nicht vollständig in die ätherische Phase über. Auch entstehen bei abweichenden Konzentrationen Trübungen, die offenbar auf Zersetzung des Komplexes zurückzuführen sind.

2. Zur Erhaltung der Stabilität des Eisenrhodanidkomplexes muß ein großer Überschuß an Ammoniumrhodanid zugesetzt werden. Da dieses aber zum größten Teil in den Äther übergeht, muß nach dem ersten Ausäthern neuerlich eine Zugabe von Rhodanid erfolgen.

3. Nach dem Lösen der Ceritoxyde in Salzsäure wird Wasserstoffperoxyd zur Oxydation des Eisens und gleichzeitigen Reduktion des Ce^{+4} zugesetzt. Es ist nun von größter Wichtigkeit, daß auch die letzten Spuren Wasserstoffperoxyd vor der Extraktion zerstört werden. Beachtet man diesen Punkt nicht, so kann sich diese wäßrige Phase innerhalb weniger Minuten nach dem Ausäthern trüben und eine Messung wird dann unmöglich. Dieser Umstand war lange Zeit hindurch die Ursache unliebsamer Störungen. Bringt man aber während des Auskochen ein kleines Stückchen Platinnetz (etwa 1 cm² groß) in die Lösung und engt auf ein kleines Volumen ein, so werden die letzten Spuren Wasserstoffperoxyd katalytisch zersetzt und die gefürchtete Trübung tritt nicht mehr ein. Die Lösung bleibt vielmehr einige Tage vollkommen klar.

4. Die durch Löslichkeit bzw. den Extraktionsvorgang mechanisch in die ätherische Phase gelangende Menge an seltenen Erden ist gering. Sie beträgt etwa 0,4% der angewendeten Oxydmenge. Die relative Zusammensetzung dieser gelösten Oxyde gibt keinen Hinweis auf selektive Bevorzugung eines bestimmten Elementes. Der Betrag dieser Löslichkeit liegt bedeutend unter der Fehlergrenze der Messung und kann überdies dadurch eliminiert werden, daß man bei Aufstellung der Eichkurven analog wie bei den Bestimmungen vorgeht.

5. Zur quantitativen Extraktion des Eisenrhodanides hat sich ein hierfür konstruierter Doppelweg-Scheidetrichter (Abb. 3) ganz besonders bewährt. Dieser kleine Apparat ermöglicht eine vollkommen saubere Trennung der wäßrigen und ätherischen Phase, wobei das lästige Verschleppen von Resten der einen Phase in die andere weitgehend vermieden wird. Er dürfte sich auch bei anderen analytischen Extraktionen gut verwenden lassen.

Auf Grund dieser Versuchsergebnisse wurde folgende Arbeitsweise für die Sm-Bestimmung entwickelt:

Von den auf Sm_2O_3 zu untersuchenden Oxydgemischen wird durch doppelte Oxalsäurefällung und Verglühen der Oxalate in Porzellangefäßen (nicht in Pt-Gefäßen!) eine ausreichende Menge Oxyd hergestellt. 5 g dieses Oxydes werden in Salzsäure gelöst und der Salzsäure-

überschuß durch Eindampfen bis zur beginnenden Kristallisation entfernt. Man überführt in ein kleines Bechergläschen und setzt Wasserstoffperoxyd (20 Tropfen 3%iges H_2O_2) zur Oxydation des Eisens und zur Reduktion des Ce^{+4} zu. Dann kocht man auf ein ganz kleines Volumen ein, wobei man ein kleines Platinnetz in die Lösung einbringt. Nun überführt man in den vorerwähnten Doppelweg-Scheidetrichter, dessen Hahn mit konz. Salzsäure geschmiert wird, und setzt soviel konz. Salzsäure zu, daß die Lösung nach Zugabe der Rhodanidlösung ca. 2-n an Salzsäure wird (14 ml Lösung, 6 ml konz. HCl, 10 ml 50%ige NH_4CNS -Lösung). Man fügt die 10 ml Ammoniumrhodanidlösung (50%ig) zu und schüttelt mit 20 ml Äther kräftig unter Kühlung am rinnenden Wasserstrahl. Nach Trennung der Schichten läßt man die wäßrige Lösung links in das vorbenützte Becherglas ablaufen, während die ätherische Phase rechts abgezogen wird. Die in der Hahnbohrung und im Ablaufrohr zurückgebliebenen Reste der Untersuchungslösung werden mit etwas Äther in das Bechergläschen gespült. Das Ausäthern wird ein zweites Mal unter Zusatz von 5 ml Rhodanidlösung und schließlich noch ein drittes Mal ohne Rhodanidzusatz wiederholt. Die ätherische Phase muß hierbei farblos sein. Eine blaßrosa Färbung würde ein viertes Ausäthern bedingen. Man läßt dann die ausgeätherte eisenfreie Lösung in ein 50-ml-Meßkölbchen abfließen, entfernt den Äther nach rechts und wäscht Bechergläschen, die verwendete kleine Mensur und den Scheidetrichter in den Meßkolben nach. Schließlich wird zur Marke aufgefüllt und durch ein kleines Blaubandfilter filtriert, um suspendierte Äthertröpfchen zurückzuhalten. Dann wird die Extinktion der Lösung in der 5-cm-Küvette mit dem Filter Hg Cd 405 und der Quecksilberlampe gemessen.

Die Aufstellung der Eichkurven erfolgt mit reinen Sm-Lösungen in der eben beschriebenen Weise.

Die obere Kurve der Abbildung ist die Eichkurve bei Verwendung des Filters Hg 405. Ihre Krümmung zeigt, daß — wie zu erwarten war — das Beer'sche Gesetz hier keine Gültigkeit hat. Als Abszissen sind g Sm_2O_3 /l eingetragen, als Ordinaten die in 5-cm-Schicht gemessenen Extinktionen. Verwendet man Einwaagen von 5 g und füllt auf 50 ml auf, so geben die Abszissenwerte direkt die Prozente Sm_2O_3 im Gemisch an. Wie aus der Kurve weiters hervorgeht, ist die Empfindlichkeit der Methode nicht besonders groß, da ja das Sm-Spektrum ziemlich schwach ist. Die geringste nachweisbare Sm-Menge beträgt ca. 1% Sm_2O_3 im Oxydgemisch. Die Fehlerstreuung liegt bei geringeren Gehalten bei ca. $\pm 1\%$ Sm_2O_3 absolut, bei höheren Sm-Konzentrationen bei ca. ± 2 bis 2,5% absolut. Leider läßt sich die Methode nicht in den Mikromaßstab übertragen, da bei zu kleinen Sm-Konzentrationen bzw. zu geringen Schichtdicken das Absorptionsspektrum des Sm verschwindet. Modellversuche, die mit Lösungs- und Oxydgemischen der Ceriterden durchgeführt wurden, zeigten, daß die Intensität der Sm-Bande durch gleichzeitige Anwesenheit anderer Erden nicht meßbar beeinflusst wird.

Versuche, die photometrische Sm-Bestimmung mit der eingangs erwähnten photometrischen Pr- und Nd-Bestimmung zu kombinieren⁴, zeigten nur zum Teil Erfolg. Sm und Nd ließen sich gut nebeneinander bestimmen, während Pr, das durch Differenzmessung bestimmt werden muß, meist zu niedrig ausfällt. Es ist deshalb die übliche Pr-Bestimmung am Spektroskop durch Intensitätsvergleich der Analysenbanden zwischen der Probe und einer Standardlösung vorzuziehen.

Bei den Bestimmungen fallen große Mengen stark verunreinigten Äthers an. Man wäscht den Äther zuerst mit Wasser und destilliert ihn dann über Wasser ab. Wir haben hierfür eine kleine Apparatur gebaut, die es gestattet, den Destillationsprozeß beinahe unbeaufsichtigt und ohne Belästigung durch Ätherdampf durchzuführen. Der Äther wird im Destillierkolben mit ungefähr dem gleichen Volumen Wasser versetzt und mittels einer schwachen Heizplatte abdestilliert. Zur Verhinderung des Stoßens haben sich kleine Holzstückchen als „schwimmende Siedesteine“ bewährt. Der Ätherdampf steigt durch das wärmeisolierte Rohr auf und kondensiert teils im innersten Rohr, teils im Kühler. Der Rest des schweren Dampfes geht durch die Querleitung in den Destillierkolben

zurück. An der oberen Entlüftung ist bei ordnungsgemäß geführter Destillation kaum Äthergeruch wahrzunehmen. Der Großteil der noch im Äther vorhandenen Verunreinigungen wird während der Destillation vom Wasser aufgenommen.

Der so destillierte Äther enthält noch geringe Mengen Schwefelwasserstoff und Sulfide. Er wird mit Bleiacetatlösung und Wasser gewaschen, nochmals über Wasser destilliert und schließlich über Calciumchlorid getrocknet.

Literatur.

- ¹ A. Brukl, Angew. Chem. **52**, 151 (1939).
- ² C. J. Rodden, J. Res. Nat. Bur. Standards **26**, 557 (1941); **28**, 265 (1942).
- ³ Th. Moeller und J. C. Brantley, Analyt. Chemistry **22**, 433 (1950).
- ⁴ R. Rasin-Streden, Z. analyt. Chem. **127**, 97 (1943/44).
- ⁵ W. Prandtl und K. Scheiner, Z. anorg. Chem. **220**, 107 (1934).

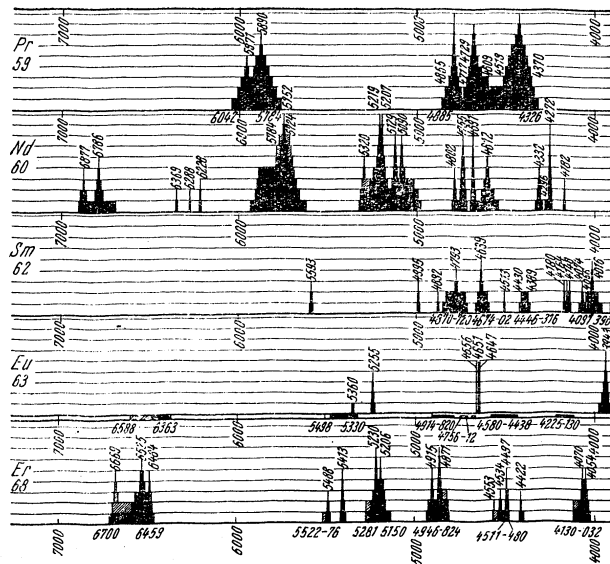


Abb. 1. Ausschnitt aus der bekannten Tabelle von Prandtl und Scheiner, bei der die Bandenintensitäten der Chloridlösungen, gemessen in 5-cm-Schicht gegen die Wellenlängen aufgetragen sind. Unten sind stets die Stammlösungen mit 1 g Atom/l eingetragen, darüber die Verdünnungen auf $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{4}$, $\frac{1}{8}$ usw.

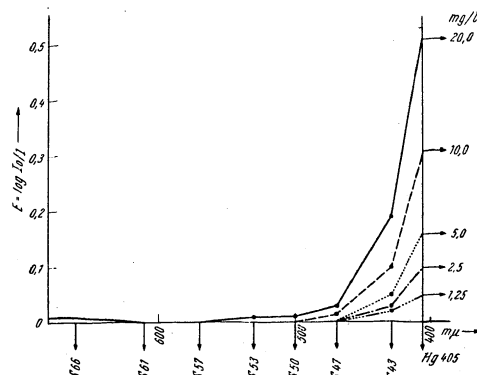


Abb. 2. Farbkurve der Extinktion Fe^{2+} in 2-n HCl Schichtdicke: 5 cm

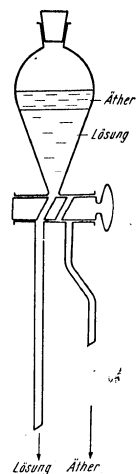


Abb. 3. Doppelweg-Scheidetrichter ca 120 ml

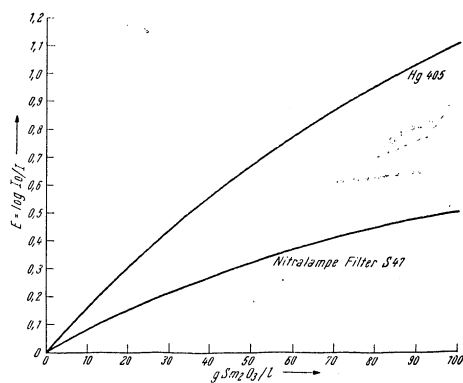
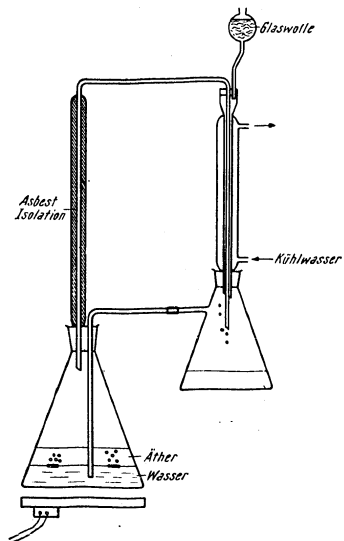
Abb. 4. Sm_2O_3 in HCl-Lösung Schichtdicke: 5 cm.

Abb. 5. Äther-Destillation.

293 a

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/51.

Zeilenanzahl: 468.

Chemistry Department, The Queen's University of Belfast.

Ultramicroanalysis: Past, Present and Future.

By

Cecil L. Wilson.

(Received April 18, 1955.)

Any doubt which I might have had about the topicality of ultramicroanalysis has been set at rest after a look at the programme for the present Symposium. This contains several papers which by their title obviously fall within my field: in addition it includes many others which, in spirit at least, also ought to be regarded as belonging to it. Among these, for example, I would suggest there should be numbered such long established methods as spot-test analysis, and the allied subject of trace analysis by colorimetric methods; and I would also add newer techniques such as chromatography and radioactivation, all of which ought, because of the amounts with which they can cope—covering a range of at least 10^{-6} to 10^{-10} g—to be regarded as potentially ultramicro, just as properly as those methods which have been specifically classified under this heading.

This attitude of mine may occasion some surprise, and may cause you to ask what my definition of ultramicroanalysis may be. It may even occasion some alarm, if you fear that I am about to attempt to review fully all the methods which might, in consequence of my wide-cast net, be considered appropriate.

I will therefore hasten to set your minds at rest, first by assuring you that my own personal preferences, together with a rigid time limit, will lay down quite severe boundaries outside which I do not propose to extend my detailed considerations, attractive and legitimate though it might be to stray beyond them. In the second place I will attempt to define briefly what I mean by ultramicroanalysis, thus hoping to make somewhat clearer the postulates on which I am basing my idea of the limits beyond which it would not be proper to stray. To do this it may help to look far back, if only for a moment, at the beginnings of microchemistry.

It used to be tacitly assumed that the foundations of microchemistry were laid down around the year 1910. Historians of the subject have, however, recognised the inception of microchemical methods at a considerably earlier date; so that although we may regard as merely an historical curiosity the claims for *Pliny* as the first microchemist, it is now fairly clearly recognised that there were several pioneers in the methods in the second half of the nineteenth century. As has been pointed out elsewhere^{1,2}, microchemistry can fairly be regarded at the present time as having completed a half century of active maturity, but the first stirrings of the subject can be discerned certainly at the beginning of the nineteenth century, and at least one instance is known² where ordinary students of chemistry were being taught in 1835 by methods which we would certainly regard as microchemical.

When I talk in this sense of microchemistry, as distinct from the classical methods of chemistry, I am using a very vague concept which covers everything right through from semimicro to ultramicro analysis, and which ought to be more precisely specified since the later development of the subject showed the necessity for a distinction of range. Any attempt to define precisely the limits of the various ranges which we have come to accept in small-scale analysis lays itself open to serious criticism, and therefore it is with some hesitation that I put forward Tables showing limits which might be accepted as indicating fairly general

Table I.

Scale of analysis	Approximate sample weight	Approximate sample volume
"Classical" or "Gram"	10 — 0.05 g	250 — 10 ml
Seminicro or Centigram	0.05 — 0.005 g	10 — 0.5 ml
Full micro or Milligram	5 — 0.1 mg	0.5 — 0.02 ml
Ultramicro or Microgram	100 — 0.1 μ g	20 — 0.1 μ l

standards.

This set of limits can be very much simplified, as shown in Table II, to give us a useful set of orienting approximations.

Table II.

Type of analysis.	Mean sample weight g	Mean sample volume ml
"Gram"	1	10^2
Centigram	10^{-2}	1
Milligram	10^{-3}	10^{-1}
Microgram	10^{-5}	10^{-3}

In Table I both upper and lower limits have been set for the range which I am arbitrarily calling the microgram range. The upper limit I will consider later, but for the moment let us look at the lower limit.

It will be seen that the quantities involved in the microgram range must be regarded as covering many of the reactions of spot-test analysis, and therefore as putting the early history of ultramicroanalysis almost as far back as that of microanalysis. In addition, to take only a couple of examples at random, many chromatographic separations deal with quantities of the order of a fraction of a microgram. And the relatively new technique of radioactivation enables the detection and determination of quantities even smaller than may be possible by the use of spot-tests or colorimetric methods — 10^{-12} g or less. Practically, therefore, the lower limit of Table I is an arbitrary one.

It is equally so on theoretical grounds. More than sufficient molecules are present to ensure that the limit of identification is not passed in qualitative analysis, and to permit an accurate quantitative analysis to be made. Indeed, *Benedetti-Pichler* has calculated³ that the theoretical limit of identification of a substance is, in general, about 10^{-20} g, while a quantitative analysis could probably be effected on as little as 10^{-16} g with a reasonable degree of certainty. With quantities smaller than these we are approaching too nearly to molecular amounts, and the kinetics of the reactions involved become of the utmost importance. It must be remembered that analytical processes are concerned, in the main, with immediate reactions. The precipitation of silver chloride, as an ionic reaction, is of great value to the analytical chemist. With smaller quantities of material than those indicated, however, it would probably be necessary to treat the precipitation rather on the lines of an organic or molecular reaction such as that between silver nitrate and an alkyl halide. To achieve quantitative precipitation might require, let us guess, boiling for a couple of hours. In such circumstances the usefulness of such a reaction to the analytical chemist might well be considerably reduced.

At the moment, however, I am not so much concerned with the theoretical limits imposed on reactions as with the practical limits. Until recently the usual minimum quantity of interest to the chemist might generally have been assessed as around 10^{-9} g, and this is well within the theoretical limits. But as I have said, this limit has been much extended by recent developments; in this connection I would merely quote two examples. The application of radioactivation techniques to the determination of arsenic allows as little as 10^{-12} g of the element to be readily measured⁴. And recently there has been a note⁵ regarding the fascinating test demonstrated by Professor *Philip W. West*, in which 10^{-15} g of copper is detected by rubeanic acid on the human skin. The first of these methods uses a new instrumental procedure, the second

uses an unusual set of conditions. But events have shown that the former procedure can be extended to other elements, and it is not unreasonable to believe that other matrices, just as novel as the human skin, may be found capable of sensitising other already highly sensitive reactions.

In the light of developments of this kind I would stress that although at first I was tempted to use the more precise term "Microgram Analysis" in my title, I was urged by the possibilities which can even today be glimpsed, to use the much wider and more embracing term "Ultramicroanalysis", and to refuse to contemplate further the barrier of a lower limit other than that set by theoretical considerations. The chemist of the small-scale still has a long way to go!

It is now necessary to say something regarding the upper limit, and in doing so to refer once more to the historical development of microchemistry. Reference back to Table II will show that there is factor of 100 between the gram and centigram scales, a factor of 10 between the centigram and milligram scales, and once more a factor of 100 between the milligram and microgram scales. I am convinced, and I hope to show, that this is significant in several respects. For the moment I would just remind you that historically speaking centigram analysis developed from milligram analysis, and that while similar techniques suffice for both of these, there are radical differences between the techniques of these two ranges and those of the classical range which they were devised to supplement. The factor of 100 between the milligram and microgram ranges calls for exactly the same revision of techniques. *Benedetti-Pichler* has drawn attention to the matter clearly, and has pointed to the reasons for it⁶. He says, "Difficulties arise from the fact that it is impossible to reduce simultaneously in a like proportion volume, surface and linear dimensions of a system. The consequence may become noticeable in all branches of microanalysis." This has its logical development in the use of novel methods of filtration, for example, when one transfers from the gram to the milligram range. For the same fundamental reasons, new methods of handling, transference and the like must be devised when one changes from the milligram to the microgram range.

The effects of the reduction in scale may be roughly classified as direct and indirect, and may best be illustrated by two examples. A direct effect of the reduction is the rapid evaporation of the extremely minute drops of liquid employed, if exposed to the ordinary atmosphere; as a consequence, it is necessary to work throughout in a controlled humidity. An indirect effect arises from the sharp increase of surface tension forces when working with extremely fine pipettes; if the tip of a pipette is fine enough to be used in some of the operations, the effect of surface tension may be so great that it is impossible to expel the liquid from the pipette using any reasonable pressure, and some means of negating the surface tension effects, as, for example, by coating the pipette with a non-wetting surface, may have to be employed.

I said earlier that I was going to allow personal preference to restrict severely the field of ultramicro techniques which I proposed to discuss. In spite of the extension of definition which I have already made, I am going to concern myself here primarily with the techniques which the average chemist would consider as qualitative, titrimetric and gravimetric ultramicro procedures. On the whole I will not concern myself with instrumental procedures which deal with amounts of the same order. Nor will I discuss at any length the qualitative methods devised by *Feigl* and now universally recognised under the comprehensive title of spot-tests. These, in many cases, are just as sensitive as the methods conventionally classified as ultramicro, and I must be forgiven if I use my time limit as the excuse for dismissing that branch of analysis somewhat cavalierly, since I feel that I should deal with operations which are less universally familiar. I would not have it thought, however, that I regard spot-tests as anything other than an important part of qualitative ultramicroanalysis.

Having, thus sketchily, considered the scope of ultramicroanalysis,

I must now turn to its development. I think it is quite fair to give credit to *Emich* and *Donau* as pioneers, since they⁷ developed the microscopic fibre tests which had a limit of identification of the order of 10^{-10} g. Other individual contributions in earlier days could also undoubtedly be quoted. But real pioneering work, and, indeed, the first organised attack on what is more generally regarded as true qualitative ultramicroanalysis, was carried out by *Benedetti-Pichler* and his co-workers. By developing these techniques, for example for the analysis of pigments used to decorate Chinese oracle bones, such small amounts of material were used that even microscopic examination of the specimens showed no evidence that analysis had been carried out⁸. From this point *Benedetti-Pichler*, who was really the first worker to realise the general applicability of such methods, went on to describe general working techniques for the qualitative analysis of solid samples within the microgram range⁹.

These techniques involved reactions and general chemical manipulation of solutions in capillary cones of $0.5 \mu\text{l}$ capacity, and observation by means of a low power microscope of the actual operations. The reagents and most of the apparatus were assembled on a small glass slide placed in a "moist" chamber to prevent evaporation of the small volumes of solution used. Methods of centrifuging, heating, saturation with gas and the like were evolved. Transfer of solutions was achieved by capillary pipettes controlled by a screw syringe. Working processes were described for the qualitative analysis of $0.01 \mu\text{l}$ of a solution containing from one-tenth to one-hundredth of a microgram or even less of various cations, and the procedures were then adapted to permit a semi-quantitative estimate of the amount of each cation present¹⁰.

On the titrimetric side one of the earliest useful techniques which falls well within the ultramicro range was that developed by *Wigglesworth*¹¹ who, working on 0.002 ml of fluid, developed a method for the accurate determination of the chloride content of the body fluid of a single insect. The essential features of his technique were the use of waxed capillary burettes, thus eliminating the surface tension effect of the liquid and ensuring at the same time the total transfer of the liquid; and capillary pipettes with waxed tips which utilised capillary effects to enable them to act as constant volume pipettes. Titrations were carried out on a waxed plate, and the drop was stirred by a jet of air which agitated the precipitate in the titration drop.

Ultramicro titration methods have especial value in biochemical work, and full credit must be given to the developments which have been made by biochemists in this particular direction. In particular, those of *Conway* are probably among the best known and most widely used¹². *Sobel* has given a useful account of the earlier work in this field¹³.

Many advances in technique were made by *Kirk* and his co-workers. Their methods have been fully described elsewhere¹⁴, and no extended account of them need be given here. Thick-walled capillaries are normally used for measuring and delivering liquids. Hypodermic syringes are convenient controls for pipettes. Burettes are usually filled or emptied by a screw plunger device controlling a thread of mercury. Stirring may be carried out by a magnetically vibrated thread stirrer or by a gas stream. Special illumination may be used to show up end-points, which are difficult to detect in the small volumes.

There is no doubt that for a number of years the most accurate quantitative determinations in ultramicroanalysis were in titrimetry, since the small volumes of liquid could be very accurately measured and transferred. Many of the titrations which are loosely termed ultramicro must, however, be properly regarded as lying only in the milligram, and not in the microgram range. Examples of true ultramicro procedures are provided by the investigations described by *Loscalzo* and *Benedetti-Pichler*¹⁵.

The development of gravimetric work on the ultramicro range has been slower than that in the other fields mentioned. For accurate gravimetric work the requirements of a balance are that it should have a sensitivity of at least 10^{-8} to 10^{-9} g, and that it should be able to carry a load of at least 100 mg . A balance which could weigh microgram samples in glass or similar vessels with an accuracy in any way approaching

that given by either analytical or microchemical balances on the higher ranges was by no means easy to design. The development of balances of the required sensitivity and robustness has been discussed elsewhere¹⁶. It was not until the post-war period that such a balance was generally available.

The requirements of atomic energy investigations during the war gave a great impetus to the development of techniques suitable for use in the ultramicro range. It is clear that in the early days at least atomic energy work could only be carried out by the use of such techniques. Thus any of the early papers describing this work contained passages which may be typified by a single quotation: "Furthermore, addition of 0.5 microlitre of the arsenious acid solution in 0.25 molar hydrochloric acid to 1 microlitre of 0.029 molar plutonium-IV solution in molar hydrochloric acid caused precipitation of only a small amount of a yellow-green precipitate . . .¹⁷". A flow sheet of chemical operations shows the stages working from about 100 kg of a uranium salt right down to 20 micrograms of plutonium, and therefore demanding the whole range of chemical techniques from the largest to the smallest¹⁸. And most people are familiar with the photographs of early samples of a few micrograms of the synthetic elements neptunium and plutonium.

Although for some years after the war information on these techniques was scanty, sufficient had been released to define certain broad trends for us in Belfast soon after, in 1947, we began serious work in this field. We shortly learned that the methods of *Benedetti-Pichler* and of *Kirk* had been utilised heavily in devising methods to deal with these quantities¹⁹. The quartz torsion balance principle had been worked out in the torsion-restoration balance. We ourselves had already drawn on *Benedetti-Pichler's* methods; and his rather complex hydraulic system for the control of liquids had already been abandoned in favour of a micrometer-controlled hypodermic syringe system when it was learned that the same step had been taken by the atomic energy workers. The Salvioni principle in the balance had been tried and found inadequate, and the publication of the detailed description of the *Kirk* balance²⁰ gave something which it was possible to modify and simplify into a perfectly adequate instrument for gravimetric work.

As far as could be ascertained, no gravimetric work other than simple residue determinations had been carried out, the preference having been for radiometric finishes. One of our principal aims was therefore to examine the possibility of using such a modified balance for ordinary gravimetric work, since we felt that one of the main essentials for the development of such work was that there should be available a reliable balance which should not require too specialised or too rigorous a technique for its use, and which could be constructed at reasonably low cost.

I am glad of this opportunity to acknowledge just how much we feel we owe to the pioneering work of *Benedetti-Pichler* and of *Kirk* and their co-workers, in achieving such success as we have been able to in our investigations.

Our main interests at first were qualitative and semi-quantitative, since we had been stimulated by the fascinating work of *Benedetti-Pichler*. However, we had been thinking along the lines implicit in his remarks where he says "The establishment of the customarily observed statistical equilibria may be expected to take place even when working far below the microgram scale. Thus it seems advantageous to utilise the experience accumulated with thoroughly tested macroprocedures by retaining the customary concentrations on the small scale, and thus ensuring the establishment of the chemical equilibria in the usual manner⁶." As a consequence, we hoped to investigate gravimetric operations in solutions of concentrations comparable to those used in the ordinary range. One of our reasons for this was that we felt that there ought to be reliable gravimetric procedures which could be used as referee methods for microgram procedures utilising other methods such as colorimetric or radiometric finishes.

It is not my intention to describe in detail here the modifications to existing methods which were made, since these have all been described

elsewhere^{10, 11}. The micromanipulator, which began as a rather unstable and makeshift piece of apparatus, was stabilised and made more convenient in operation. As already stated, the control of the transfer of liquid was by means of a micrometer-operated syringe, a procedure which has, of course, been widely applied since that time in the milligram range. The wax-coated apparatus of *Wigglesworth* was modified, and his principle was ultimately more simply applied by the use of silicone-treated surfaces. The balance construction was very much simplified. It is of much interest to me that the design of the balance has since that time been further simplified and improved from our admittedly *ad hoc* instrument; and the new instrument, described by *T. S. West* at this Symposium²², should have a very wide appeal.

In qualitative work we have devised modifications of classical procedures for certain of the normal analytical groups. The principal need here has been for ways of coping with operations which cannot merely be scaled down, such as the addition of volatile or of solid reagents. We have found it quite feasible to analyse qualitatively 50 μl of solution containing 0.25 to 0.5 μg of sample. We have made a considerable investigation of the proper selection of suitable compact and reproducible precipitates for semi-quantitative work, and on amounts similar to those handled in qualitative analysis we have achieved a mean deviation of less than 10 per cent, and in favourable cases of 5 per cent, which is at least comparable with absorptiometric and other physical methods on this scale.

On the gravimetric side we have been primarily concerned with "wet" reactions, that is, with ordinary gravimetric procedures scaled down to the microgram range. We have found ways of carrying out such operations as the production, washing, "filtration", drying and weighing of precipitates in glass vessels. Operating with 200 μl of solution containing 10 μg of sample, we have obtained deviations in standard gravimetric procedures of less than 1 per cent, which is, of course, better than can be achieved by physical methods in this range, and which therefore satisfies our belief that gravimetric procedures can be used for referee purposes without any hesitation.

It is of interest to note that fears of unusually difficult conditions governing the use of the ultramicro balance have not been realised. The sensitivity of the balance to temperature and vibration is much less than with the normal microchemical balance. Much still remains to be done in this field, both by us and by others, on such problems as the production and handling of precipitates, but we are satisfied that the possibilities in this work have been clearly demonstrated.

I have been asked to consider how I think ultramicro analysis may develop in the near future. I will first of all mention briefly the more obvious lines of development. I have already pointed out that I have been particularly interested in the utilisation of gravimetric methods in the ultramicro range as methods which can supplement or check other procedures which do not always produce recognisable precipitates capable of normal manipulation. There is room for an extensive examination of the multitude of established classical gravimetric procedures, with a view to determining their suitability for use on this scale.

Other applications readily occur to me. The wet chemistry of the new radioelements such as technetium, and of older elements such as protactinium and actinium, which have not previously been available in quantities which could be handled by established procedures, is an obvious one. Problems such as those of corrosion should be more confidently tackled by methods capable of examining the very small amounts of material according to chemical methods derived directly from macro-analysis. And the biologist is undoubtedly much nearer his ultimate ambition, first achieved by *Chambers* and his co-workers²³, of being able to observe directly in every case the chemistry of the single cell, rather than the average behaviour of a multitude of cells. The value of biochemical results, particularly in the range of 10^{-10} to 10^{-11} g will be great.

Carrying this line of thought to the extreme, we can see, as I implied

earlier, the possibility of allowing the chemist to make a much closer approach in practice to the theoretical limit of observing chemical reactions. It will be onerous but fascinating work to push these techniques down to the absolute limit of which they are capable, and indeed *Benedetti-Pichler* has already made some interesting investigations along these lines²⁴, observing confirmatory reactions at 10^{-13} to 10^{-14} g contained in 10^{-9} to 10^{-11} ml of solution.

I also feel that significant development of physical methods for the detection of end-points in titrations will remove one of the difficulties inherent in titrimetric analysis, enabling true ultramicro titrations to be carried out more easily than at present. On the organic side I anticipate most interesting developments from the application of spot-tests of the kind recently described by *Feigl*²⁵ in which a systematic application of synthetic organic chemistry is able to lead to most convincing identifications. Current trends in the use of physical methods of analysis in the biochemical field have fairly recently been reviewed²⁶, and in any case I have promised not to consider these in detail.

There are other perhaps less obvious lines of possible development. In organic elementary analysis we have for long been limited in performance by the size of the absorption vessels, the most obvious instance of this being in the determination of carbon and hydrogen. One way of tackling ultramicro organic analysis might be by improving the ultramicro balance so as to allow it to take a bigger load; and some work by *Kuck*²⁷ has proceeded along these lines. An alternative might be to devise a radically new system of absorbing the combustion products, for, if we examine the procedures, we can see that these are in the main virtually unaltered since they were first introduced by *Preyl*. To go even further, we can see that the basic principles of determining carbon and hydrogen have been virtually unaltered since the time of *Liebig*. It seems to me not impossible that a broad examination of the whole problem might enable a lively mind to devise a fundamentally different method of determining carbon and hydrogen which could be more readily adapted to the ultramicro scale.

My final suggestion regarding the possible development of ultramicro-analysis is one to which I have given much thought, and which seems to me a likely and attractive possibility. I stressed earlier that historically centigram analysis developed after milligram procedures, and that I regarded the relation between these as being especially significant. The step up, by a factor of ten, achieved a popularisation of the milligram procedures which I am sure would never have occurred had they remained on the milligram scale. With a slight increase in sample size, methods were made available which used simple apparatus, which saved time as compared with the classical methods, which used samples considerably smaller than the classical methods, and which were within the capabilities of the average operator after a relatively short period of training. In other words, practically all the advantages of milligram analysis were retained, since the techniques were still employed, but the particular disadvantages associated with a rigorous application of the techniques were largely eliminated.

I have asked myself repeatedly whether such a shift in scale might not have an equivalent advantage in ultramicroanalysis. Let us assume that the sample size were to be increased to 50 to 100 μ g (say 10^{-4} g). This would give a range bearing the same relation to microgram analysis as do centigram techniques to milligram techniques. Using the present type of balance, of course, a higher precision could undoubtedly be achieved, and the robustness of the present balance would admittedly allow this to be done. However, a rather more robust and less sensitive balance could also be utilised. I have in mind either a less sensitive balance constructed according to the principle used in the quartz ultramicro balance; or a balance, perhaps, similar to that recently described by *Graham*²⁸; or a modification of that described by *Gorbach*²⁹. In any case, the balance should be simple, and so readily constructed that it might be thought of as a general-purpose instrument in any analytical laboratory, just as a semi-micro balance is used by many laboratories

that would never expect to make any use of a microbalance. With such a balance and relatively simple apparatus to supplement its use, the average analytical laboratory might be tempted to utilise the methods of ultramicroanalysis more widely, and the average worker ought, without extensive training, to be able to handle the less rigorous technique.

To my mind the widespread expansion of microchemistry (in its widest sense) and the general recognition now accorded to it as a standard part of analytical chemistry are closely related to the shift from milligram to centigram procedures. The same advantage might be expected to arise from a shift from "ultramicro" to "semicultramicro" analysis. The development of deci- or centimilligram procedures might well lead to the same recognition of ultramicroanalysis (again used in the widest possible sense) as a standard part of analytical chemistry, rather than as an esoteric tool to be resorted to on rare occasions, the prerogative of a few laboratories, and practised by masters of technique. It is this single broad line of development which I regard as the most potentially fruitful one for the practice of ultramicroanalysis in the immediate future.

Summary.

Ultramicroanalysis can be regarded as dealing with samples of the order of 10^{-5} g or 10^{-3} ml, but this should not be accepted as setting a lower limit, since many procedures are already used whose sensitivity can be utilised well below this range. The development of qualitative and semi-quantitative inorganic methods, and of titrimetric and gravimetric procedures in the ultramicro range is reviewed, and a number of possible developments are considered. Particularly important is the possibility of an increase in range from 10^{-5} to 10^{-4} g, allowing the same relaxation of rigid techniques which followed the development of "semi-micro" from "micro" analysis, and encouraging the more widespread application of ultramicro techniques in the ordinary analytical laboratory.

Zusammenfassung.

Ultramikroanalyse kann als ein Verfahren zur Untersuchung von Proben der Größenordnung von 10^{-5} g oder 10^{-3} ml angesehen werden, aber damit soll keine untere Grenze gesetzt werden, zumal viele Methoden bereits angewendet werden, deren Empfindlichkeit weit unter dieses Gebiet reicht. Die Entwicklung qualitativer und halbquantitativer Methoden, maßanalytischer und gravimetrischer Verfahren im Ultramikromaßstab wird im Überblick erörtert und eine Reihe möglicher Entwicklungen in Betracht gezogen. Besonders bedeutungsvoll ist die Möglichkeit einer Erhöhung der Größenordnung von 10^{-5} auf 10^{-4} g, da hierdurch eine ähnliche Erleichterung der schwierigen Arbeitstechnik zu erzielen wäre, wie sie sich beim Übergang von Mikro- zu Halbmikromethoden ergeben hat. Dies würde den Anreiz zu weitgehender Verwendung von Ultramikromethoden in den üblichen Laboratorien bieten.

References.

- ¹ A. A. Benedetti-Pichler, *Mikrochem.* **36/37**, 24 (1951).
- ² C. L. Wilson, *Mikrochim. Acta* [Wien] **1953**, 58.
- ³ A. A. Benedetti-Pichler, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **12**, 226 (1940).
- ⁴ A. P. Seyfang and A. A. Smales, *Analyst* **78**, 394 (1953).
- ⁵ *Chem. Eng. News* **32**, 4861 (1954).
- ⁶ A. A. Benedetti-Pichler, *Mikrochem.* **36/37**, 38 (1951).
- ⁷ F. Emich, *Microchemical Laboratory Manual* (transl. by F. Schneider). New York: Wiley, 1932. p. 000.
- ⁸ A. A. Benedetti-Pichler, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **9**, 149 (1937).
- ⁹ A. A. Benedetti-Pichler, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **9**, 483 (1937); *Introduction to the Microtechniques of Inorganic Analysis*. New York: Wiley, 1942.
- ¹⁰ A. A. Benedetti-Pichler and J. R. Rachele, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **12**, 233 (1940); A. A. Benedetti-Pichler and N. Cefola, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **14**, 813 (1942); **15**, 227 (1943).
- ¹¹ V. B. Wigglesworth, *Biochemic. J.* **31**, 1719 (1937).
- ¹² E. J. Conway, *Microdiffusion Analysis and Volumetric Error*. 3rd Ed. London: Crosby Lockwood, 1950.
- ¹³ A. E. Sobel, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **17**, 242 (1945).
- ¹⁴ P. L. Kirk, *Quantitative Ultramicroanalysis*. New York: Wiley, 1950.
- ¹⁵ A. G. Loscalzo and A. A. Benedetti-Pichler, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **17**, 187 (1945).
- ¹⁶ H. M. El-Badry and C. L. Wilson, *Royal Inst. of Chem. Monogr.* **4**, 23 (1950).

- ¹⁷ B. B. Cunningham et al., The Transuranic Elements, National Nuclear Energy Series, IV-14B, Vol. I, Paper 3.2. New York: McGraw Hill, 1949, p. 124.
- ¹⁸ B. B. Cunningham and L. B. Werner, The Transuranic Elements, National Nuclear Energy Series, IV-14B, Vol. I, Paper 1.8. New York: McGraw Hill, 1949, p. 59.
- ¹⁹ B. B. Cunningham and L. B. Werner, The Transuranic Elements, National Nuclear Energy Series, IV-14B, Vol. I, Paper 1.8. New York: McGraw Hill, 1949, p. 51. B. B. Cunningham, U. S. Atomic Energy Commission, AECD-2703 (1949).
- ²⁰ P. L. Kirk, R. Craig, J. E. Gullberg, and R. Q. Boyer, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. 19, 427 (1947).
- ²¹ T. Brindle and C. L. Wilson, Mikrochem. 39, 310 (1952). H. M. El-Badry and C. L. Wilson, Analyst 77, 526 (1952); Mikrochem. 40, 141 (1952), 218, 225, 230 (1953).
- ²² H. Asbury, R. Belcher and T. S. West, Mikrochim. Acta [Wien].
- ²³ R. Chambers, M. J. Kopac and C. G. Grand, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. 9, 143 (1937).
- ²⁴ A. A. Benedetti-Pichler and J. R. Rachele, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. 12, 233 (1940).
- ²⁵ F. Feigl, Mikrochim. Acta [Wien] 1953, 157; Birmingham Symposium on Analytical Chemistry, 1954.
- ²⁶ D. Glick, Chem. Eng. News 31, 139 (1953).
- ²⁷ J. A. Kuck, P. L. Altieri and A. K. Towne, Mikrochim. Acta [Wien] 1953, 254; 1954, 1. J. A. Kuck and P. L. Altieri, Mikrochim. Acta [Wien] 1954, 17. J. A. Kuck and E. C. Grim, Mikrochim. Acta [Wien] 1954, 201. J. A. Kuck, M. Daugherty and D. K. Baldorf, Mikrochim. Acta [Wien] 1954, 297.
- ²⁸ I. Graham, Mikrochim. Acta [Wien] 1954, 746.
- ²⁹ G. Gorbach, Mikrochim. Acta [Wien] 1954, 352.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/52.

Zeilenanzahl: 240.

Nagoya University, Nagoya, Japan.

Microchemical Detection of Several Elements Using Ion-Exchange Resin.

By

Hidétaké Kakihana*.

* Present Address: Royal Institute of Technology, Stockholm 70,
Sweden.

(Received April 4, 1955.)

Introduction.

Ion-exchange resins are effective media in which to carry out chemical tests for micro-quantities of elements, for two reasons: (1) The concentration of ions in the ion-exchange resin is, in general, much higher than that in the solution, so that ions can be concentrated in the resin from very dilute solutions, and the sensitivity of the test is therefore increased. (2) By the choice of a suitable resin by control of the pH in and outside the resin, and by the use of a special resin impregnated with a reagent which is specific or selective for the ion in question, it is possible to exclude interfering substances. Thus the selectivity of the test is increased.

The author and his colleagues have recently made several investigations in this field. Some of these investigations, especially those using colourless or slightly yellow anion-exchange resins as media for chemical tests, will be described below.

General Procedure.

The method of testing is extremely simple and does not require any special apparatus. Two different procedures are possible.

(1) A drop** (or a few drops) of sample solution is transferred to the spot

** 0.02 ml or 0.03 ml.

plate by means of a capillary pipette, a few particles*** of anion-exchange

*** The size of the particle is about 30-mesh of Tyler's normal sieve.

resin are added (using tweezers or a glass rod), mixed and left for a few minutes and then a drop (or a few drops) of suitable reagent solution is added and mixed. The change in colour of the resin particles and the surrounding solution is observed with the aid of a magnifying glass.

(2) A drop (or a few drops) of sample solution is transferred to the spot plate by means of a capillary pipette, and a few particles of anion-exchange resin, previously impregnated with suitable reagent, are added and mixed. The change in colour of the resin particles is observed with the aid of a magnifying glass.

In both procedures, if necessary, a drop (or a few drops) of acid, alkali or buffer solution is added. Interfering cations can be removed by adding suitable amount of powdered cation-exchange resin just before adding the particles of anion-exchange resin.

Detection of microgram amounts of cobalt using ammonium thiocyanate¹.

Using procedure (I) a sensitive and definite confirmatory test for cobalt (II) can be carried out. The sample solution may be neutral or acid. The RCl form of an anion-exchange resin with high or medium cross-linking, e. g. Dowex 1 X-10, -8, -6 or Amberlite IRA-410, -400 may be used. The particles of these anion-exchange resins have a light yellow colour when they are immersed in a drop of sample solution. A sky blue colour appears at the surface of each particle of the resin within ten minutes after adding a drop of 1 M ammonium thiocyanate solution,

if 0.16 μg of cobalt is present in a drop of sample solution, as shown in Table I. Thus the limit of identification of cobalt is 0.16 μg and its limiting concentration is 1: 1.3×10^3 . The limiting proportions are listed in Table II.

Table II. Limit of Identification.

No.	Amount of Co(II) (μg in 0.02 ml)	Time after mixing	Results											
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1.	0.016	60 min.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	0.016	1 day	±	±	—	±	+	—	+	±	±	±	—	—
2.	0.16	2 min.	±	±	±	—	±	—	±	±	±	±	—	—
	0.16	10 min.	+	±	+	±	+	+	±	+	+	+	±	—
3.	0.16	60 min.	+	+	+	±	+	+	±	+	+	+	+	+
	1.6	0.5-1 min.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
	1.6	10 min.	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Table II. Influence of other Substances in the Test for Cobalt.

Substance	Amount of Substance	Limit of Identifica- tion for Cobalt μg	Limiting proportion	Note
Fe^{3+}	700 μg	0.32	1: 2.2×10^3	+ KF (excess)
Ni^{2+}	320 μg	0.32	1: 10^3	
Cu^{2+}	1 mg	0.5	1: 2×10^3	+ KI, + $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$
Mn^{2+}	1 mg	0.2	1: 5×10^3	
Cr^{3+}	400 μg	0.32	1: 1.3×10^3	
UO_2^{2+}	700 μg	1.6	1: 4.5×10^2	
OH^- , CN^- ..	excess	0.16		+ 1 N HCl (excess)
F^- , I^- , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$	excess	0.16		
A	excess	0.16		
B	excess	0.16		

A: HCl, H_2SO_4 , HNO_3 , H_3PO_4 and HClO_4 .

B: acetic, oxalic, tartaric and citric acid.

Detection of microgram amounts of chromium using hydrogen peroxide².

Procedure (1) can also be used effectively in this case. The sample solution must be acidic, and the most suitable acidity is 1 N in sulphuric acid or acetic acid. The degree of cross-linking of resin is not important; thus we can use a resin with low, medium or high cross-linking, though the first seems to be a little better than others because it is easier to observe. Therefore the RCl form of Amberlite IRA-411 or Dowex 1 X-1 or -2 is preferable as the medium for the test. The particles of these resins are colourless or very slight yellow when they are immersed in a drop of sample solution. A few minutes after adding a drop of 1% hydrogen peroxide solution to a dichromate solution, the particles become grey to violet-blue in colour, depending on the amount of dichromate ion present. The limit of identification is 0.3 μg and the limiting concentration is 1: 1×10^3 . The influence of other substances which may be present and their limiting proportions are listed in Table III. When the sample solution contains chromium as Cr^{3+} , it must first be oxidized by heating with a drop of a saturated solution of potassium permanganate. The excess of the oxidizing solution is fortunately decolorized by adding a drop of hydrogen peroxide. In this case the limit of identification is 0.3 μg and the limiting concentration is 1: 6.7×10^4 .

Table III. Influence of other Substances in the Test for Chromium.

Substance	Amount of Substance	Limit of Identification for Chromium	Limiting proportion
Fe^{2+} or Fe^{3+}	430 μg	0.25	1: 1.8×10^3
Ni^{2+}	2.3 mg	0.64	1: 3.6×10^3
Co^{2+}	2.7 mg	0.63	1: 4.4×10^3
Cu^{2+}	1.4 mg	0.63	1: 2.2×10^3
Mn^{2+}	excess	0.3	
UO_2^{2+}	910 μg	0.62	1: 1.5×10^3

Detection of microgram amounts of germanium using hematoxylin.

Either procedure (1)³ or (2)⁴ can be used for the confirmatory test for germanium (IV). However, as procedure (2) is easier than procedure (1), and gives more definite results, the test using procedure (2) will be described. The sample solution must be acidic. A concentration of 0.1 N in hydrochloric acid solution is most suitable, although any acidity in the range of 0.02-1 N hydrochloric acid may be used. An anion-exchange resin with low cross-linking, e. g. Dowex 1 X-1, -2 or Amberlite IRA-411, should be used, because hematoxylin is not readily absorbed by a resin with high cross-linking. Hematoxylin solution is prepared by dissolving 0.1 g of hematoxylin in 5 ml of 95% alcohol and adding 20 ml of water and 25 ml of 0.1 N hydrochloric acid. A small amount of the RCl form of the anion-exchange resin is added to this hematoxylin solution, shaken and stored in a stoppered bottle. In a few hours the particles of the resin are impregnated with hematoxylin and become bright yellow. A few particles are transferred to a filter paper to absorb liquid. The dried resin particles are added to a drop of sample solution. A brown to red-violet colour appears according to the content of germanium. The limit of identification is remarkably low, namely 0.005 μg , and the limiting concentration is $1:6 \times 10^6$. The limiting proportions of other ions, except for Fe(III), Bi(IV), Sb(III) and Sn(IV) which interfere severely in this test, are listed in Table IV. The interfering ions Fe(III) and Bi(III) can be removed by adding a suitable amount of a finely powdered strongly acid cation-exchange resin with high cross-linking, (e. g. Dowex 50 X-10 -12, etc. or Amberlite IR-120), wetted with water, just before adding the particles of the anion-exchange resin impregnated with hematoxylin. This cation-exchange resin can be used also to remove Al(III), Zn(II) and Cu(II) etc. present in excess of the limiting proportion. In this case, so many H^+ ions are liberated from the cation exchange resin, that the drop of sample solution becomes too strongly acidic for the test. A new step in the procedure is therefore required; after the particles of the resin impregnated with hematoxylin are immersed in a drop of sample solution (+ cation exchange resin) for about half an hour, they should be transferred to a drop of 0.1 N hydrochloric acid solution, where the colour change should be observed. In order to remove the interfering effect of Sb(III) and Sn(IV) micro distillation is necessary.

Table IV. Influence of other Substances on the Test for Germanium.

Substance	Amount of Substance	Limit of identification for Germanium μg	Limiting proportion
As	300 μg	0.005	$1:6 \times 10^4$
Al	300 μg	0.01	$1:3 \times 10^4$
	2 mg	0.2	$1:10^4$
Cu	300 μg	0.01	$1:3 \times 10^4$
	2 mg	0.2	$1:10^4$
Zn	300 μg	0.005	$1:6 \times 10^4$
	2 mg	0.04	$1:5 \times 10^4$
Cd	300 μg	0.01	$1:3 \times 10^4$
Pb	300 μg	0.01	$1:3 \times 10^4$
Mn	300 mg	0.01	$1:3 \times 10^4$
Ag*	300 μg	0.01	$1:3 \times 10^4$
	2 mg	0.04	$1:5 \times 10^4$
NaCl	2 mg	0.005	$1:4 \times 10^6$
NaSO ₄	2 mg	0.005	$1:4 \times 10^6$

* The RF form of anion exchange resin must be used, because AgCl is precipitated on the surface of the RCl form of an anion-exchange resin.

Conclusion

It has been seen that colourless or slightly coloured ion-exchange resins may be used as media for confirmatory spot tests. The method has the great advantages of simplicity, sensitivity and selectivity. The method is illustrated by spot tests for Co, Cr and Ge.

The author's colleagues in Japan are now investigating several other reactions, e. g. those of vanadium(V) with 8-hydroxyguinoline, aluminum with alizarin-S, and fluorine with hematoxylin.

Summary.

A new method of carrying out confirmatory tests is proposed. Colourless or slightly yellow anion-exchange resins are used as media for the tests. Both sensitivity and selectivity can be increased because of the well-known properties of ion-exchange resins. Co(II) and Cr(VI) can be detected by very simple procedure; to a drop of sample solution a few particles of anion-exchange resin (RCl form) are added and after some time a drop of reagent [ammonium thiocyanate to Co(II) and hydrogen peroxide to Cr(VI)] is added. The change in colour of the particles of ion exchange resin is observed with the aid of magnifying glass. The limit of identification of sky blue colour of the cobalt complex is $0.16 \mu\text{g}$ and its limiting concentration is $1:1.3 \times 10^5$. The limit of identification of violet-blue colour of the Cr(VI) complex is $0.3 \mu\text{g}$ and its limiting concentration is $1:10^5$. Ge(IV) can also be detected easily by a slightly modified method; the particles of an anion-exchange resin with low cross linking are previously impregnated with hematoxylin solution and those yellow particles are transferred to a drop of sample solution. The limit of identification of the red-violet colour of the Ge(IV) complex is $0.005 \mu\text{g}$ and its limiting concentration is $1:6 \times 10^6$. Interfering substances, such as Fe^{3+} and Bi^{3+} , can be removed completely with the aid of a cation-exchange resin which is added just before adding the particles of anion-exchange resin. The limiting proportions are also described in each case.

Zusammenfassung.

Eine neue Methode für die Ausführung von analytischen Nachweisen wird vorgeschlagen. Hierzu werden farblose oder hellgelb gefärbte Anionenaustauscher verwendet. Die Empfindlichkeit und Selektivität läßt sich infolge der bekannten Eigenschaften von Austauschharzen steigern. Kobalt(II) und Chrom(IV) können in einfacher Weise nachgewiesen werden; zu einem Tropfen der Probelösung gibt man wenige Körnchen des Anionenaustauschers (RCl-Form) und setzt nach einiger Zeit einen Tropfen Reagens [Ammoniumrhodanid für Kobalt(II) und Wasserstoffperoxyd für Chrom(IV)] zu. Die Farbveränderung der Ionenaustauscherpartikel wird mit einem Vergrößerungsglas beobachtet. Die Erfassungsgrenze für die himmelblaue Farbe des Kobalt(II)komplexes beträgt $0,16 \mu\text{g}$, die Grenzkonzentration $1:1,3 \cdot 10^5$. Die Erfassungsgrenze für die violettblaue Farbe des Chrom(VI)komplexes $0,3 \mu\text{g}$, die Grenzkonzentration $1:10^5$. Germanium(IV) läßt sich ebenso leicht nach einer etwas abgeänderten Methode nachweisen; die Teilchen eines Anionenaustauscherharzes mit geringer Kettenverzweigung werden zunächst mit einer Hämatoxylinlösung imprägniert, dann bringt man diese gelb gefärbten Körnchen zu einem Tropfen der Probelösung. Die Erfassungsgrenze für die rotviolette Farbe des Germanium(IV)komplexes beträgt $0,005 \mu\text{g}$, die Grenzkonzentration $1:6 \cdot 10^6$. Störende Substanzen, wie Eisen(III) und Wismuth(III), können mit Hilfe eines Kationenaustauschers, den man unmittelbar vor dem Anionenaustauscher zusetzt, vollständig entfernt werden. Die Grenzverhältnisse werden für jeden dieser Nachweise angegeben.

References.

- ¹ M. Fujimoto, Bull. Chem. Soc. Japan **27**, 48 (1954).
- ² M. Fujimoto, Bull. Chem. Soc. Japan **27**, 347 (1954).
- ³ H. Kakihana and T. Murase, J. Chem. Soc. Japan **75**, 907 (1954).
- ⁴ H. Kakihana, Y. Mori and K. Yapraski, J. Chem. Soc. Japan **76**, 215 (1955).

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/53.

Zeilenanzahl: 223.

Aus dem Max Planck-Institut für Metallforschung, Stuttgart.

Zur Genauigkeit der Glimmschichtmethode (cathode arc layer).

(Fehlerrückbildung durch Anwendung einer gedrehten
Kathode.)

Von

Gottfried Holdt.

Mit 3 Abbildungen.

(Eingelangt am 21. April 1955.)

Verdampft man beim spektroskopischen Spurennachweis aus der Kathode und nutzt die dabei auftretende Glimmschichtanreicherung (cathode arc layer) nach *Mannkopff* und *Peters*¹ aus, so tritt infolge des Abbrandes der Kathode ein Effekt auf, der die Genauigkeit der quantitativen Bestimmung beeinträchtigt. Durch ungleichmäßigen Abbrand bekommt die Stirnfläche der Kathode und damit die Anreicherungszone eine von Fall zu Fall wechselnde Neigung zum Spalt des Spektrographen, und erhebliche Schwankungen des Untergrundes, der einzelnen Linien und ihrer Intensitätsverhältnisse können auftreten. Eine einfache apparative Maßnahme, nämlich die Drehung der Kathode während des Brandes um ihre Achse, beseitigt die Folgen des Schiefbrandes.

Es werden Beispiele für das unterschiedliche Verhalten bei Fest- und bei Drehkathode gegeben.

Verwendete Bezeichnungen:

Zusatzlinie: Linie des zu bestimmenden Elements.

Bezugslinie: Linie eines Standardelements.

Y (Y -Wert): $= \log I$, Logarithmus der Intensität einer Linie.

ΔY (Y -Differenz) $= (Y_z - Y_b)$, Logarithmus des Intensitätsverhältnisses von Zusatz- und Bezugslinie.

Parallelreihe: Reihe von Spektren, die in Probe, Anregung und Belichtung gleich sind.

N = Wertebereich einer Parallelreihe.

„Schwankung“ einer Linie $= (Y - \bar{Y})$ mit $\bar{Y} = 1/N \cdot \Sigma Y$.

Maximaler Schwankungsunterschied $= (Y_{\max} - Y_{\min})$ innerhalb einer Parallelreihe.

Schwankungsdiagramm: graphische Darstellung der Y -Werte der Analysenlinien innerhalb einer Parallelreihe gegeneinander in rechtwinkligen Koordinaten.

Schwankungsgerade: Gerade, die alle Punkte des Schwankungsdiagramms ausgleicht.

Streuung: Quadrat der mittleren quadratischen Abweichung.

c = Konzentration des Zusatzelementes.

Festkathode: Kathode in der üblichen, feststehenden Anordnung.

Drehkathode: Kathode, die um die eigene Achse rotiert.

Der Schiefbrand der Kathode.

Man kann beobachten, daß eine zentral gebohrte und gefüllte Kathode von Fall zu Fall verschieden abbrennt, da, anscheinend auf Grund von Materialeinflüssen und Dickenunterschieden, die Wandung der Bohrung ungleichmäßig abgebaut wird. Wesentlich ist dabei, daß sich während des ganzen Brandes die einmal angenommene schiefe Lage der Kathodenstirnfläche kaum verändert. Dieser Effekt tritt je nach Dicke der Bohrungswandung früher oder später auf.

Je nach der Neigung der Kathodenoberfläche zum Spalt können nun Teile der Anreicherungszone abgeblendet und damit das gesamte Spektrum geschwächt werden. Umgekehrt werden Linien und Untergrund verstärkt, wenn die schiefe Kathodenoberfläche dem Spalt zugewandt ist. Dieser Effekt ist statistischen Schwankungen unterworfen. Er bewirkt eine

gesteigerte Unsicherheit beim halbquantitativen Linienvergleich, sowie eine Erhöhung des Analysenfehlers bei der Messung von Intensitätsverhältnissen.

Die Untersuchungsmethode.

Beobachtet man die Kathode auf einem Schirm, so zeigt sich beim Drehen der ungleichmäßige Abbrand sehr deutlich.

Für die Messung des Abbrandeinflusses auf das Schwankungsverhalten der verschiedenen Linien wurde die Kathode synchron mit 100 U/min gedreht. Der Effekt wurde für die photographische Registrierung der Spektren untersucht. Es wurden dazu auf der gleichen Platte Parallelreihen von Fest- und Drehkathode aufgenommen und die verschiedenen Y -Werte über die jeweilige Schwärzungskurve bestimmt.

Trägt man nach dem bereits angegebenen Verfahren² die Y -Werte der zu vergleichenden Linien in rechtwinkligen Koordinaten gegeneinander auf, wie dies in den Figuren 1 bis 3 geschehen ist, so erhält man aus jeder Parallelreihe eine Punktmenge gleichen Umfangs. Die Lage der Punkte zueinander erlaubt nun Schlüsse auf das Schwankungsverhalten der einzelnen Linien, auf die Streuung der Y -Differenz und auf etwa vorhandene „Ausreißer“ (Meßfehler, Plattenfehler oder zufällige Verunreinigung einer Kohle). Wären überhaupt keine zufälligen Fehler vorhanden, so hätte man alle Punkte genau auf einer Geraden liegend, der sogenannten Schwankungsgeraden, anzunehmen. Die Streuung der Y -Differenz wäre dann gleich Null (sofern die Schwankungsgerade die Steigung Eins hat). Aus der Abweichung der Punkte von der Schwankungsgeraden können also bei Kenntnis der zufälligen Fehler der Intensitätsbestimmung (Kornfehler der Platte, Photometrierung, Rechenauswertung) in schneller und einfacher Weise die dem Verfahren selbst anhaftenden zufälligen Fehler abgeschätzt werden.

Messungen.

Ein Einfluß des Kathodenabbrandes kann bei der Niobanalyse nach Holdt und Schäfer³ festgestellt werden. Für dies Verfahren zeigt Fig. 1 das Schwankungsverhalten bei Dreh- und Festkathode. Tabelle I gibt dazu Werte für den maximalen Schwankungsunterschied verschiedener Linien. Die Übereinstimmung für zwei Zinnkonzentrationen ist gut. Wie zu erwarten, weist der Untergrund die höchste Änderung auf.

Tabelle I. Verhalten der Y -Schwankungen bei Drehkathode und Festkathode.

Zinn-Bestimmung in Niob(V)-Präparaten nach G. Holdt und H. Schäfer³.

	Linie	Maximaler Schwankungsunterschied ($Y_{\max} - Y_{\min}$)		
		N	Drehkathode	Festkathode
1,0% SnO ₂ ...	Sn(I) 2863,3	12	0,20	0,60
PbO und GeO ₂	Nb(F) 2868,5	12	0,32	0,70
als Standard	Pb(I) 2873,3	12	0,20	0,70
zugefügt ...	Ge(I) 2691,3	12	0,20	0,50
0,01% SnO ₂ ...	Sn(I) 2863,3	12	0,10	0,30
PbO und GeO ₂	Nb(F) 2868,5	12	0,30	0,40
als Standard	Pb(I) 2873,3	12	0,20	0,53
zugefügt ...	Ge(I) 2691,3	12	0,13	0,30
	UG bei 2870*	12	0,04	0,20

* Gemittelter Untergrund, an je drei benachbarten Stellen gemessen.

Ferner wurde das Verhalten von Al₂O₃ plus zugefügter Beimengungen untersucht. Das Oxyd wurde auf chemischem Wege durch Fällung des Aluminiumhydroxyds, das die gelösten Beimengungen festhält, und anschließendes Glühen hergestellt.

Aufnahmedaten:

Spektrograph: Zeiß Q 24 mit Zwischenabbildung der Kathodenumgebung.

Analysenprobe: mit fünf Gewichtsteilen Kohle gemischt und bis

zum Rand fest in die Bohrung gestampft.

Kohlen: Graphit, Sorte RW I der Ringsdorff-Werke.

Anode: oben, 20 mm lang mit planer Fläche von 5 mm Durchmesser.

Kathode: unten, 20 mm lang mit Bohrung von 1,4 mm Durchmesser und 6 mm Tiefe. Angedrehter Zapfen von 10 mm Länge und 2,6 mm Durchmesser.

Elektrodenabstand: 4 mm, konstant gehalten.

Stromstärke: 10 Amp., Vorwiderstand konstant.

Zündung: mechanisch.

Belichtung: von Zündung bis zum völligen Verbrauch der Füllung, ca. 2' 45".

Substanzverluste durch Versprühen bei der Zündung sind sehr gering, kurz vor Beendigung des Brandes durch Fortspritzen von Schmelzperlen wesentlich größer.

Tabelle 2. Verhalten der Y-Schwankungen und Analysenfehler bei Drehkathode und Festkathode. Vollständige Verdampfung von Al_2O_3 plus Beimengungen mit fünf Gew.-Teilen Kohle gemischt.

	Ordnungsnummer der Beimengung	Zusatzlinie beimengung	Maximaler Schwankungsunterschied ($Y_{\max} - Y_{\min}$)		Mittlerer relativer Analysenfehler $\frac{s(c)}{c}$		N
			Drehkathode	Festkathode	Drehkathode	Festkathode	
1	0,01 % TiO_2	Ti(II) 3234,5 Al(I) 3050,1	0,13 0,16	0,22 0,30	8 %	11,5 %	23
2	0,02 % MoO_3	Mo(II) 3170,3 Al(I) 3050,1	0,12	wie 1	8 %	13 %	23
3	0,01 % V_2O_5	V(I) 3185,4 Al(I) 3050,1	0,15	wie 1	10 %	10 %	23
4	0,01 % V_2O_5	V(II) 3185,4 Mo(II) 3170,3		wie 3	10 %	8 %	23
5	0,1 % CrO_3	Cr(II) 3021,6 Al(I) 3050,1	0,13	wie 2	6 %	12 %	23
6	0,1 % CrO_3	Cr(II) 2835,6 Al(II) 2816,2	0,14 0,17	0,24 0,51	7 %	28 %	24
7	0,01 % MgO	Mg(I) 2852,1 Al(I) 3050,1	0,13	0,24	8 %	11 %	23
8	0,2 % Sb_2O_3	Sb(I) 2598,1 Fe(II) 2599,4	0,17 0,10	0,31 0,22	6 %	13 %	11
9	0,01 % MnO_2	Mn(II) 2593,7 Al(I) 2598,0	0,16 0,08	0,25 0,24	9 %	8 %	23
10	0,01 % MnO_2	Mn(I) 2801,1 Al(II) 2816,2	0,14	0,19	11 %	29 %	24

Tabelle 2 gibt die gemessenen Werte für den maximalen Schwankungsunterschied verschiedener Linien bei Dreh- und Festkathode, sowie den mittleren relativen Analysenfehler (unter der vereinfachenden Annahme einer Steigung Eins der Eichgeraden) für verschiedene Linienpaare. In allen Fällen tritt durch die Drehung der Kathode eine Verringerung des maximalen Schwankungsunterschiedes ein. Der relative Analysen-

fehler sinkt ebenfalls (der Widerspruch für die Linienpaare 3 und 4 ist durch einzelne, stark abweichende Punkte des Schwankungsdiagramms erklärbar). Fig. 2 zeigt als Beispiel das Schwankungsdiagramm für ein Ti/Al-Paar.

Fig. 3 zeigt das auffällige Schwankungsverhalten der Linie Al(II) 2816,2. Hier wird der maximale Schwankungsunterschied durch Anwendung der Drehkathode besonders stark herabgesetzt, was für die übrigen gemessenen II-Linien nicht der Fall ist. Es ergibt sich eine Schwankungsgerade mit der Steigung $w < 1$. In diesem Fall läßt sich der Analysenfehler auch durch Gewichtserteilung am Intensitätsverhältnis² auf fast den gleichen Wert herabdrücken wie mit der Drehkathode. Das gleiche Verhalten vor der Kathode war dort bereits für die Linie Mg(II) 2791 gefunden worden. Diese beiden Linien entsprechen höheren Termübergängen, deren verstärktes Auftreten in einer sehr schmalen Zone vor der Kathode bereits von *Mannkopff*⁴ beobachtet wurde. Es ist klar, daß sich in diesem Falle der Kathodenschiefbrand besonders stark auswirken muß.

Zusammenfassung.

Es konnte gezeigt werden, daß bei Ausnützung der Glimmschichtanreicherung (cathode arc layer) Ungleichmäßigkeiten beim Abbrand der Kathode zu Intensitätsfehlern Anlaß geben. Durch Drehung der Kathode während des Brandes läßt sich dieser Einfluß ausschalten. Auf diese Weise wird der maximale Schwankungsunterschied der einzelnen Y-Werte und die Streuung der Y-Differenzen herabgesetzt, sowie der Untergrund konstant gehalten. Es wird damit die halbquantitative Abschätzung durch Linienvergleich erleichtert und die quantitative Bestimmung durch Messung von Y-Differenzen verbessert. Das einfach zu zeichnende Schwankungsdiagramm ermöglicht ohne Rechnung einen Überblick über die Leistungen eines Analysenverfahrens. Es bestehen Zusammenhänge zu dem bereits beschriebenen² unterschiedlichen Schwankungsverhalten von Analysenlinien, das durch Gewichts-anwendung am Logarithmus des Intensitätsverhältnisses beseitigt werden kann.

Summary.

By using the cathode arc layer, it could be shown that irregularities in the consumption of the cathode lead to intensity errors. Rotating the cathode during the burning will eliminate this influence. In this way the maximum fluctuation difference of the individual Y-values and the scattering of the Y-differences is decreased, and also the background can be kept constant. The half-quantitative estimation by line comparison is facilitated in this way and the quantitative determination by measurement of Y-differences is improved. The fluctuation diagram, which is easily drawn, makes it possible to obtain, without calculation, an overview of the accomplishments of an analytical procedure. There are relationships with the previously described² variable fluctuation behavior of analysis lines, which can be excluded by weighting the logarithm of the intensity of the intensity relationship.

Literatur.

- ¹ R. Mannkopff und Cl. Peters, Z. Physik **70**, 444 (1931).
- ² G. Holdt, Mikrochim. Acta [Wien] 1955, 286.
- ³ G. Holdt und H. Schäfer, Z. analyt. Chem., im Druck.
- ⁴ R. Mannkopff, Physik **76**, 403 (1932).

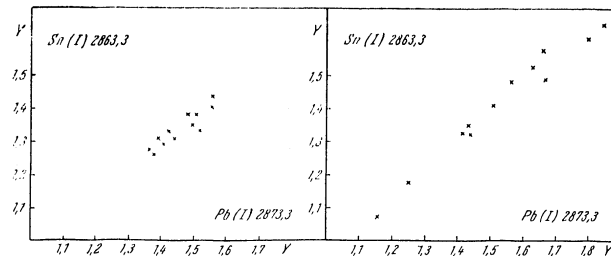


Fig. 1. 0,01% SnO_2 in Nb_2O_5 mit einem Gew.-Teil Kohle, $N = 12$ PbO als Bezugssubstanz zuge-mischt. Belichtet über einen bestimmten Verdampfungsabschnitt.

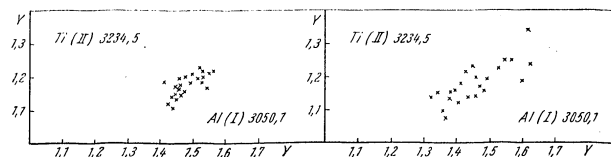


Fig. 2. Ca. 0,01% TiO_2 in Al_2O_3 mit fünf Gew.-Teilen Kohle, $N = 23$. Belichtet über die voll-ständige Verdampfung.

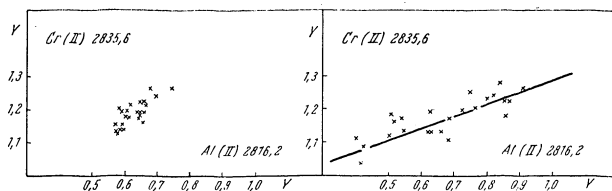


Fig. 3. Ca. 0,1% CrO_3 in Al_2O_3 mit fünf Gew.-Teilen Kohle, $N = 23$. Belichtet über die voll-ständige Verdampfung.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/54.

Zeilenanzahl: 338.

Aus dem Chemischen Laboratorium des Institutes für gerichtliche Medizin
der Universität Wien.

Anwendung mikrochemischer Methoden in der Kriminalistik.

Von

Franz X. Mayer.

Mit 11 Abbildungen.

(Eingelangt am 21. April 1955.)

Die gerichtliche Chemie, wie wir sie heute verstehen, umfaßt praktisch sämtliche Vorgänge des täglichen Lebens, die ja irgendwie immer chemische Probleme beinhalten bzw. auslösen. Ursprünglich verstand man unter gerichtlicher Chemie vorwiegend die chemische Hilfe zur Klärung medizinischer Fragen die Rechtsprechung betreffend, somit vor allem Fragen toxikologischer Natur. Die Entwicklung, die diese Arbeitsrichtung aber in den letzten Jahrzehnten genommen hat, zeigte nun eindeutig, daß nicht nur die gerichtliche Medizin, sondern überhaupt die gesamte naturwissenschaftliche Kriminalistik aus der Hilfsstellung der Chemie ungeahnten Nutzen zogen und immer noch ziehen, indem diese vielfach das Rüstzeug liefert bzw. die Wege für weitere Forschungen ebnet. Erst die Anwendung mikrochemischer Methoden und die Heranziehung physikalisch-chemischer Untersuchungsverfahren, wie Röntgentechnik, Mikrophotographie und Spektroskopie, ermöglichten in der Kriminaltechnik die Analyse „kriminalistischer Spuren“ und somit die Erfassung und Sicherung der für die Aufklärung eines Geschehens so wichtigen „objektiven Beweise“ 6, 8, 11, 18.

Somit ist heute die Tätigkeit eines forensischen Chemikers im wahrsten, aber auch weitesten Sinne des Wortes die eines angewandten Chemikers mit besonderer Betonung der Analytik; vor allem aber der Mikroanalyse. Diese Tätigkeit erfordert neben einer gründlichen chemischen Ausbildung u. a. entsprechende physikalische, medizinische, botanische, mineralogische und technische Kenntnisse, Intuition und etwas Phantasie — von letzterer aber nicht zu viel —, vor allem aber sehr reiche Erfahrung gepaart mit einer strengen Selbstkritik.

Es liegt in der Natur der Sache, daß das zur Beurteilung vorliegende Material in der Regel sehr schwierig und kompliziert, meist auch unzureichend ist. Im allgemeinen hat sich der forensische Chemiker mit der Erfassung und Identifizierung kleinster Substanzmengen zu beschäftigen, die zumeist in einer verhältnismäßig sehr großen Ballastmenge verteilt sind. Es hat daher in der Regel vor dem Nachweis und der Bestimmung eine chemische Anreicherung zu erfolgen¹⁵.

Obwohl es auf dem Gebiete der gerichtlichen Chemie praktisch nur sehr ähnliche, aber nie vollkommen gleiche Fälle gibt, läßt sich die unerläßliche chemische Anreicherung, wenn auch unter Berücksichtigung der Fragestellung, im großen und ganzen doch zu einem allgemeinen Analysengang zusammenfassen. Flüchtige Substanzen wird man durch Destillation der Spuren oder der Hauptbestandteile anreichern, nicht flüchtige organische Verbindungen bzw. anorganische Substanzen wird man durch Extraktion der Spuren oder der Hauptbestandteile bzw. mittels Dialyse, Chromatographie, Ionenaustausch oder durch Fällung abtrennen. Substanzen, die eine Mineralisierung vertragen, werden am einfachsten durch Zerstörung der organischen Ballaststoffe, sei es durch Veraschen, sei es durch nassen oxydativen Aufschluß mit nachfolgender Extraktion oder Fällung angereichert.

Ungleich schwieriger gestaltet sich in der Regel eine sichere und eindeutige Identifizierung der abgeschiedenen fraglichen „Spuren“. Man muß sich darüber im klaren sein, daß der forensische Chemiker im allgemeinen trotz erfolgter Anreicherung mit Substanzmengen arbeiten muß, die sich zwischen Bruchteilen von Mikrogrammen und Bruchteilen von Milligrammen, seltener von Milligrammen bewegen. Er benötigt daher sehr selektive Nachweisreaktionen hoher Empfindlichkeit, wie solche vielfach in der Tüpfelanalyse, den kolorimetrischen Verfahren, aber auch in den Kristallfällungen zur Verfügung stehen.

Da eine der Haupttätigkeiten des kriminalistischen Chemikers darin besteht, Identitätsbeweise zu erbringen, wird er vorwiegend solche Untersuchungsverfahren bevorzugen, die es auch bei Vorliegen geringster Substanzmengen ermöglichen, einen erschöpfenden Befund zu erheben. Als ein solches besonders geeignetes Verfahren erwies sich bei kriminalistischen Untersuchungen vor allem die Spektroskopie, sowohl als Emissions- als auch als Absorptionsspektalanalyse^{11, 18}. Mit der Emissionsspektalanalyse lassen sich vor allem die Elemente mit Metallcharakter bis zu 0,001 % erfassen; absolut genommen ergibt dies Mengen von etwa einem Mikrogramm und noch Werte darunter. Absorptionsspektalanalytisch lassen sich noch Substanzen nachweisen und bestimmen, die in der Größenordnung von Milligrammen und darunter vorliegen.

Die vielseitigen Anforderungen, die derzeit an einen Gerichtschemiker gestellt werden, und ihre Bewältigung mit Hilfe mikrochemischer Methoden, lassen sich am besten durch eine Reihe von Beispielen aus unserer langjährigen Praxis aufzeigen.

Die Ermittlung einer Brandursache^{1, 4} bei Verdacht einer Brandstiftung gehört oft zu den schwierigsten Aufgaben der naturwissenschaftlichen Kriminalistik und bedarf in der Regel der Mitarbeit eines erfahrenen Chemikers zwecks Erbringung des Nachweises, ob und welche Mittel zur Brandlegung verwendet wurden. Oft lassen sich durch einfache Wasserdampfdestillation unter Verwendung eines von uns entwickelten Spezialvorstoßes (vgl. Abb. 1) aus dem Brandschutt Reste von flüssigen, flüchtigen Brennstoffen abtreiben und dann als solche isolieren¹⁰. Da ein sehr wesentliches Kriterium zur Charakterisierung eines flüssigen Brennstoffes die Kenntnis seines Flammpunktes ist, haben wir Versuche unternommen, diesen auch an so kleinen Mengen reproduzierbar zu bestimmen. Dies führte zur Entwicklung eines kleinen Gefäßes (in Abb. 2 in natürlicher Größe wiedergegeben), in dem sich wenige Tropfen, z. B. eines Petroleums, nach Anheizen auf dem Mikroschmelzpunktsapparat prüfen lassen. Die Zündung erfolgt elektrisch über ein Induktorium. Mit diesem einfachen Apparat konnten wir mit zwei Tropfen eines Petroleums die gleichen Flammpunkte messen, die wir unter Verwendung erheblich größerer Mengen im amtlichen Petroleumprüfer nach *Abel-Pensky* erzielten.

Unter Verwendung einer Hochvakuumapparatur mit Hochfrequenzheizung lassen sich noch geringste Reste, d. h. Bruchteile von Milligrammen eines flüssigen Brennstoffes isolieren¹ und anschließend mittels Absorptionsspektalanalyse im UV und IR identifizieren¹⁴.

Erheblichen Anteil haben chemische Untersuchungen an der Aufklärung von Fälschungen der verschiedensten Art, da sich in der Regel aus der Kenntnis der Zusammensetzung, sei es einer Legierung oder von Farben, Hinweise auf die Herkunft gewinnen lassen. In diesem Zusammenhang sei auf die eingehenden mikrochemischen Untersuchungen von *H. Malissa*⁹ bzw. *R. Strebing*¹⁶ zur Beurteilung von Kunstgegenständen und Gemälden hingewiesen. Im gegenständlichen Fall handelte es sich um die Fälschung von Bezugscheinen; gefragt war, ob die auf dem weißen Arbeitsmantel des mutmaßlichen Täters aufscheinenden Farbflecke mit den Farben der Druckerzeugnisse übereinstimmen (vgl. Abb. 3). Es wurden rote und blaue Farbflecke tragende Teile des Arbeitsmantels sowie die entsprechenden Farben des Druckerzeugnisses bzw. nicht mit Farbe versehenes Vergleichsmaterial vom Mantel und Papier im mechanischen Abreibbogen (100 V, 4 A) auf spektralreinen Kohleelektroden verbrannt und die Emissionsspektren im UV mittels eines Quarzspektrographen Q 24 (Spaltbreite :0.005 mm) aufgenommen; abgebildet wurde auf die Spaltebene. Unter den gleichen Bedingungen wurden

auch Abschnitzel von den mit Farbe beschmutzten Fingernägeln des fraglichen Täters geprüft. Das Ergebnis dieser Untersuchung ist in der Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tabelle 1. Spektralanalytische Untersuchung der Farbflecke eines Arbeitsmantels bzw. der Farben eines gefälschten Druckerzeugnisses.

Probe	Fläche in cm ²	Gew. in g	Asche in %	Ag	As	Ba	Co	Cr	Cu	Mn	Pb	Sn	Tl	Zn
Papier von nicht bedruckten Rand .	53,0	0,5115	15,2	±	—	—	—	±	++	±	—	±	—	±
Papier mit blauem Farbaufdruck	53,0	0,5488	15,4	+	±	++	+	++	++	++	++	++	++	+
Papier mit rotem Farbaufdruck auf blauem Grund	15,5	0,1689	15,7	+	—	++	+	++	++	++	++	++	++	+
Papier mit roter Schrift auf rot-blauem Grund . . .	6,7	0,0733	15,7	+	—	++	+	++	++	++	++	++	++	+
Arbeitsmantel von einer nicht beschmutzten Stelle .	3,0	0,0596	0,9	±	—	—	—	—	++	—	—	—	—	—
Arbeitsmantel mit blauem Farbfleck .	4,0	0,1214	25,0	+	±	++	±	++	++	++	++	++	++	+
Arbeitsmantel mit rotem Farbfleck . .	3,0	0,0777	5,7	+	—	++	++	++	++	++	++	++	++	—
Abschnitzel von den beschmutzten Fingernägeln	—	0,1253	1,7	+	—	++	±	++	++	+	+	—	+	+

Hierbei zeigte sich gute Übereinstimmung des anorganischen Pigments der korrespondierenden Farben. Aber auch in den Abschnitzeln der Fingernägel ließen sich die in den Druckerzeugnissen enthaltenen Elemente nachweisen. Des weiteren wurden die rote und die blaue Farbe des Druckerzeugnisses und des Arbeitsmantels mit geeigneten Lösungsmitteln eluiert — am besten eignete sich Essigester — und von den klaren, gelben, schwach rotstichigen Lösungen die Absorptionsspektren im UV mittels eines Spektralphotometers nach *Beckman* aufgenommen. Unter Verwendung eines besonders konstruierten Halters für die dünnen Küvetten des *Scheibesch* Küvettenatzes war es möglich, die nur sehr geringen Mengen (0,5 ml) der an sich schon sehr verdünnten Lösungen erfolgreich zu untersuchen. Wie aus Abb. 4 zu ersehen ist, zeigen die aus den blauen Farben des Mantels und des Druckerzeugnisses mit Essigester extrahierten Substanzen praktisch die gleiche Lichtabsorption, während der Extrakt der roten und blauen Farbe des Druckerzeugnisses eine Absorptionskurve ergibt, die als eine Summenkurve der Extrakte der roten und blauen Farbe des Arbeitsmantels anzusprechen ist. Das Ergebnis der emissions- und absorptionsspektralanalytischen Untersuchung spricht sehr dafür, daß die Farben auf den untersuchten Gegenständen identisch sind.

Sehr erfolgversprechend sind entsprechende mikrochemische bzw. spektroskopische Untersuchungen der verschiedenen bei Verkehrsunfällen immer entstehenden bzw. hinterlassenen „Spuren“ besonders dann, wenn Fahrerflucht vorliegt¹¹. In der Regel hinterläßt jedes mit einem Farbanstrich versehene rammende Fahrzeug an den Stellen, an denen es das Opfer trifft, Spuren seines Anstriches. Bei Vorliegen entsprechender Vergleichsproben besteht die Möglichkeit, große Erfahrung vorausgesetzt, Hinweise zur Klärung des Geschehens zu gewinnen¹².

Im gegenständlichen Fall wurde an einem Winterabend zwischen dem Randstein einer Rettungsinsel und den Straßenbahnschienen liegend eine weibliche Leiche gefunden. Aus der Lage der Leiche, den Verletzungen und den Verschmutzungen an ihren Kleidern war der Schluß zu ziehen, daß der Unfall durch einen vorbeifahrenden Zug der Straßenbahn gesetzt worden war. Zur Untersuchung wurden übergeben: ein

grüngefärbter Kniestrumpf vom linken Bein der Leiche; dieser zeigte im Bereiche der Kniekehle eine großflächige (4×5 cm messende) schmutzige Verfärbung mit deutlichem Geruch nach Schmieröl; ferner eine Probe Schmierfett aus der Stümmelkappe eines Straßenbahnwagens. Proben und Vergleichsproben wurden einerseits emissionsspektroskopisch, andererseits nach Extraktion mit Äther mikrochemisch bzw. absorptionspektroskopisch untersucht. Das Ergebnis der emissionsspektroanalytischen Untersuchung ist in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 2. Zusammenstellung

der Ergebnisse der spektralanalytischen Untersuchung der Schmierölflecke auf einem Strumpf und einer Schmierölprobe aus der Stümmelkappe eines Straßenbahnwagens betreffend einen Verkehrsunfall (Ch 430/54).

Probe	Ag	Al	Ba	Ca	Cr	Cu	Fe	Mg	Mn	Pb	Si	Su	Zn
Schmieröl aus der Stümmelkappe eines Straßenbahnwagens	±	++	-	++	+	+	++	++	++	++	++	++	±
Strumpf mit Ölfleck	±	++	±	++	++	+	++	++	++	++	++	++	±
Strumpfgewebe zum Vergleich	-	++	+	++	++	+	++	++	±	±	++	±	±

Die vom Äther befreiten Extraktionsrückstände stellten bei sämtlichen Proben reichliche Mengen einer braunschwarzen, schmierigen Substanz von mehr fester als ölgiger Konsistenz dar. Die Prüfung der getrockneten, ätherfreien Extrakte mit der Mikromethode nach G. Gorbach³ ergab die Abwesenheit von verseifbaren Anteilen. Die Extrakte bestanden zur Gänze aus unverseifbaren Mineralölbestandteilen. Der Brechungsindex wurde bei beiden Proben zu $n_D^{20} = 1,357$ gefunden.

Schließlich wurden Teile der Extrakte in entaromatisiertem Normalbenzin gelöst und von diesen Lösungen die Lichtabsorption im UV bestimmt. Wie aus den in Abb. 5 wiedergegebenen Extinktionskurven zu ersehen ist, zeigen die Lösungen der in gereinigtem Normalbenzin gelösten Ätherextrakte eine charakteristische Absorption mit je einem Maximum bei 2540 Å bzw. 2300 Å. Die Übereinstimmung beider Proben war gut, so daß der berechnete Schluß gezogen werden konnte, daß der Unfall durch einen Zug einer Straßenbahn hervorgerufen worden war, und zwar war die Frauensperson von der Stümmelkappe eines rechtsseitigen Rades getroffen worden.

Einen sehr erheblichen Beitrag leisten chemische Untersuchungen zur Beurteilung von Schußverletzungen^{11, 17, 18}. Der Vorgang eines Schusses beinhaltet neben der mechanischen Wirkung eine Reihe von chemischen Umsetzungen, deren Spuren sich allenthalben in der Geschosbahn und vor allem an solchen Stellen nachweisen lassen, die eine Änderung in der Dichte der von den Treibgasen bzw. dem Geschöß durch-eilten Medien aufweisen. Durch mikroskopische, mikrochemische und spektralanalytische Untersuchungen des Schußkanals und seiner Umgebung auf unverbrannte Pulverteilchen, auf Verbrennungsrückstände des Pulvers sowie auf die vom Geschöß bzw. aus der Treibladung und dem Zündsatz stammenden Metalle, vor allem Blei, allenfalls Quecksilber, Antimon, Zinn, mitunter Barium, lassen sich wertvolle Hinweise auf die Richtung und Entfernung der abgefeuerten Waffe vom Opfer sowie auf die verwendete Munition gewinnen.

Wir haben den von J. T. Walker¹⁷ angegebenen Test zur Feststellung eines Nahschusses eingehend überprüft und seine Einfachheit in der Anwendung sowie die Bedingungen zu seiner Reproduzierbarkeit festgestellt¹². Im wesentlichen wird ausfixiertes gewöhnliches, glänzendes Photopapier durch 10 Minuten mit einer 0,5%igen Sulfanilsäurelösung und nach dem Trocknen mit einer 0,5%igen α -Naphthylaminlösung getränkt und mit Methanol gehärtet. Die schußverdächtigen Kleidungsstücke bzw. Hautstellen werden auf das so präparierte Papier gelegt, mit einem mit 10%iger Essigsäure befeuchteten Tuch bedeckt und durch 10 Minuten heiß geplättet, wobei die Temperatur des Plättens 150°C nicht übersteigen darf. Unter diesen Bedingungen reagieren die Nitrite

der Verbrennungsprodukte des Pulvers wie Abb. 6 zeigt mit dem organischen Agens des präparierten Photopapieres unter Bildung intensiv rot gefärbter Farbflecke (Diazotierung und Kupplung).

Daß die Kriminaltechnik auch aus dem sinnvollen Anwenden der in der Papierchromatographie gewonnenen Erkenntnisse entsprechenden Nutzen ziehen kann, haben *S. Odén* und *B. v. Hofsten*¹³ durch ihre Arbeiten über den Nachweis von Fingerabdrücken in sehr eindrucksvoller Weise dargelegt, indem sie zeigten, daß diese sich über die in den Schweißabsonderungen enthaltenen geringen Spuren an Aminosäuren mittels der Ninhydrinreaktion nachweisen lassen und daß dieser Nachweis zum Unterschied gegenüber den bisher üblichen Methoden mit Joddämpfen noch nach Jahren gelingt. Wir haben diese Reaktion überprüft und auch auf Papieren, die nachweislich mehrere Jahre alt und in der Zwischenzeit nicht benützt worden waren, gute reproduzierbare Ergebnisse erzielt (Abb. 7). Voraussetzung ist absolut wasserfreies Aceton als Lösungsmittel für Ninhydrin, worin die Papiere zu baden sind, und anschließendes Erwärmen im Trockenschrank durch mehrere Minuten auf 80°C.

Aus dem großen Gebiet der toxikologischen Untersuchungen sei abschließend einiges über den Nachweis und die Identifizierung von Schlafmitteln vom Typus der Barbitursäurederivate berichtet. Die bei uns verbreitetsten Präparate sind Veronal (Diäthylbarbitursäure), Luminal (Phenyläthylbarbitursäure) und Phanodorm. Ihr Mißbrauch ist eine der derzeit häufigsten Vergiftungsarten.

Die Ausmüttung erfolgt in der Regel durch Extraktion mit weinsauerm Alkohol und Ausschütteln der Filtrate der wäßrigen Lösungen der Extraktionsrückstände mit saurem Äther bzw. Chloroform. Zur Reinigung werden die wäßrigen Lösungen der Rückstände der sauren Äther- bzw. Chloroformextrakte bei bicarbonatalkalischer Reaktion mit Äther erschöpfend ausgeschüttelt. Die Lösung dieser Verdunstungsrückstände in Chloroform wird mit Tierkohle durchgeschüttelt und filtriert. Der nun anfallende Verdunstungsrückstand ist in der Regel farblos und zeigt nach längerem Stehen Kristallisation. Trotzdem sind diese Rückstände im allgemeinen noch nicht schmelzpunktrein⁵. Durch von den Schlafmitteln stammende Abbauprodukte ergibt sich fast stets eine mehr oder minder erhebliche Depression des Schmelzpunktes. Der Nachweis, daß ein Barbitat vorhanden ist, bietet im allgemeinen keine besonderen Schwierigkeiten, auch die quantitative Erfassung kleinster Mengen ist Dank der spektralphotometrischen Mikroverfahren, die uns zur Verfügung stehen, verhältnismäßig rasch durchführbar². Schwierigkeiten bzw. Langwierigkeiten ergeben sich aber fast stets, wenn es erforderlich ist, den Nachweis eines bestimmten Schlafmittels zu führen, somit einen Identitätsbeweis zu erbringen. Dieser gelingt eigentlich nur durch Bestimmung des Mikroschmelzpunktes nach *Kofler*⁷ an durch langwierige Sublimation gereinigten Kristallen. Für eine rasche und dennoch sichere Identifizierung lassen sich nun mit Vorteil die beim Erhitzen auf dem Mikroschmelzpunktstisch feststellbaren Kristallumwandlungen heranziehen. Aus einem Kristallisationsrückstand, der Luminal enthält, läßt sich dieses an dem Auftreten kleiner, schiefwinkliger rhomboedrischer Prismen (Abb. 8), erkennen, während Veronal lange Kristallspeife ergibt (Abb. 9); Phanodorm wieder gibt sich durch gruppenweise angeordnete sechseckige Kristalltafeln zu erkennen (Abb. 10).

Zusammenfassung.

An Beispielen aus der Praxis wird die Anwendung mikrochemischer Methoden zur Klärung kriminalistischer Probleme dargelegt. Gebracht werden Untersuchungen zur Aufklärung von Bränden, Fälschungen, Verkehrsunfällen, Schußverletzungen, neuere Methoden zur Feststellung von Fingerabdrücken bzw. die Identifizierung von Schlafmitteln vom Typus der Barbitursäurederivate.

Summary.

The application of microchemical methods in the solution of police problems is shown by means of actual examples. Pertinent instances include arson, forgery, traffic accidents, bullet wounds, new methods for taking finger

prints, identification of soporifics of the barbiturate type.

Literatur.

- ¹ Beiträge zur Lehre von der Brandermittlung. Herausgeg. im Einvernehmen m. d. Pol. Inst. Hiltrup. i. A. d. Schleswig-Holsteinschen Landesbrandkasse. Kiel: 1952.
- ² St. Goldschmidt, W. Lamprecht und E. Helmreich, Z. physiol. Chem. **292**, 125 (1953).
- ³ G. Gorbach, Mikrochem. **31**, 302 (1943).
- ⁴ R. Graßberger, VFDB-Zeitschrift **1**, Nr. 2 (1952).
- ⁵ H. Jansch und F. X. Mayer, Beitr. gerichtl. Med. **19**, 64 (1952).
- ⁶ P. L. Kirk, Crime Investigation. New York: Interscience. 1953.
- ⁷ L. und A. Kofler, Thermo-Mikro-Methoden zur Kennzeichnung organischer Stoffe und Stoffgemische. Weinheim/Bergstraße: Verlag Chemie. 1954.
- ⁸ A. Lucas, Forensic Chemistry and Scientific Criminal Investigation. London: E. Arnold. 1945.
- ⁹ H. Malissa, Mikrochem. **35**, 34, 302 (1950).
- ¹⁰ F. X. Mayer, Beitr. gerichtl. Med. **18**, 169 (1949).
- ¹¹ F. X. Mayer, Spektrochim. Acta **5**, 63 (1952).
- ¹² F. X. Mayer und N. Wölkart, im Druck.
- ¹³ S. Odén und B. v. Hofsten, Nature **173**, 449 (1954).
- ¹⁴ A. Schöntag und W. Specht, Kriminalistik **5/54**.
- ¹⁵ H. Specker und H. Hartkamp, Angew. Chem. **67**, 173 (1955).
- ¹⁶ R. Strebing, Mikrochem. **36/37**, 805 (1951).
- ¹⁷ J. T. Walker, J. Crim. Law Criminology **31**, 497 (1940).
- ¹⁸ O. Werner, Angew. Chem. **65**, 69 (1953).
- ¹⁹ N. Wölkart, in W. Laves, Der Straßenunfall. Stuttgart: F. Enke. 1955.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/55.

Zeilenanzahl: 896.

Aus dem Chemischen Laboratorium des Instituts für gerichtliche Medizin
der Universität Wien.

Studien zur quantitativen Bestimmung von Mikro- grammengen Blei.

Von

F. X. Mayer und P. Schweda.

Mit 9 Abbildungen.

(Eingelangt am 22. April 1955.)

Die Methoden des Nachweises und der analytischen Bestimmung von Blei haben in den letzten 20 Jahren mit der zunehmenden Bedeutung dieses Schwermetalles in der modernen Toxikologie eine derartige Entwicklung erfahren, daß man sie mit gutem Recht als einen Spezialzweig der analytischen Chemie betrachten kann. Vor allem die Bestimmung sehr geringer Bleimengen hat viele Analytiker veranlaßt, Methoden auszuarbeiten, die unabhängig von dem klassischen Nachweis im Schwefelwasserstoffgang und der Sulfat- bzw. Chromatbestimmung die Messung von Mikrogrammengen Blei möglich machen. Die Verfeinerung des Bleinachweises durch nephelometrische Bestimmung des Bleisulfids schloß an die alten klassischen Methoden an, die mit der Sulfat- und Chromatfällung in diesem Konzentrationsbereich versagt hatten. Die Einführung des Dithizons in die analytische Chemie durch *H. Fischer* wurde jedoch einer der entscheidenden Fortschritte in der Entwicklung des Spurennachweises. Dieser führte zu der Übertragung dieser Methode auf die verschiedensten Anwendungsgebiete, zu ihrer Verfeinerung und zur Aufdeckung bzw. Vermeidung ihrer Fehlerquellen usw. Nachdem durch fast ein Jahrzehnt die Dithizonbestimmung die fast ausschließlich untersuchte und angewandte Methode war, erwuchsen ihr nach und nach in den physikalisch-chemischen Methoden bedeutende Konkurrenten, vor allem in der spektrographischen Bestimmung, der Polarographie und der Konduktometrie.

Wir befaßten uns im Rahmen einer umfangreichen Arbeit über den Nachweis von Blei in biologischem Material mit der Verwendung von Dithizon bzw. der polarographischen Methode zur Bestimmung von Mikrogrammengen Blei. Soweit die dabei erhaltenen Ergebnisse von allgemeinem analytischem Interesse sind, wird im nachfolgenden darüber berichtet.

I. Die Dithizonmethode.

Eine grundlegende Änderung erfuhr die Bestimmung von kleinsten Mengen Blei durch das von *E. Fischer*¹ entdeckte und von *H. Fischer*²⁻⁴ in die analytische Chemie eingeführte Diphenylthiocarbazon, kurz Dithizon genannt*. Von *H. Fischer* und Mitarbeitern⁵, hinsichtlich seiner Metall-

* Im folgenden wird für Dithizon, die von *P. L. Hibbard* (6) vorgeschlagene Bezeichnung Dz verwendet.

verbindungen und der Verwertbarkeit des Metalleinzelnachweises für die chemische Analyse genau untersucht, wurde das verhältnismäßig unspezifische Dithizon, gelöst in Chloroform oder Tetrachlorkohlenstoff, durch spezielle Bedingungen zu einem spezifischen Reagens. Durch geeignete Zusätze bzw. Reaktionsbedingungen können die einzelnen Metalle, die mit Dz wasserunlösliche Komplexverbindungen eingehen, die sich in organischen Solvenzien mit starken Färbungen lösen, eindeutig nachgewiesen und quantitativ bestimmt werden.

Die spezielle Anwendung der Dithizonmethode auf die Bestimmung von Blei.

Die Extraktionsgebiete der einzelnen Metalle sind leider nicht streng einem pH-Wert zugeordnet, so daß eine Extraktion bei genau eingehaltenem pH nicht spezifisch für die Entfernung eines einzelnen Metalles aus einer Mischung von mehreren ist. Die Extraktion bestimmter Metalle verläuft in einem mehr oder minder breiten pH-Intervall. Es gelingt aber durch geeignete Zusätze und Reaktionsbedingungen, in diesen Bereichen wieder Auslesen zu treffen und somit die Metallextraktionen weitestgehend zu spezifizieren.

Das Extraktionsgebiet des Bleis liegt zwischen pH 5 und 10. In neutraler

Lösung ist die Mehrdeutigkeit der Reaktion 14, das heißt, es reagieren fast alle mit Dz extrahierbaren Metalle. In cyanidhaltiger Lösung vermindert sich die Mehrdeutigkeit auf 3: mit Blei werden noch Zinn, Thallium und Wismut extrahiert. In vorher oxydierten Kaliumcyanidlösungen ist schließlich nur mehr die Eindeutigkeit 1 gegeben: neben Blei reagiert noch Wismut.

Die Koinzidenz von Blei mit Wismut bei der Dithizonextraktion.

Eine bedeutende Schwäche der exakten Bleibestimmung mit Dz liegt in der Tatsache begründet, daß unter den Bedingungen des Nachweises neben Blei auch Wismut extrahiert wird. Es ist unmöglich, auch nur auszugsweise die Arbeiten anzuführen, die über den störenden Einfluß des Wismuts auf die Bleibestimmung vorliegen. Die folgenden Literaturangaben sind eine Auslese der wichtigsten, um sich an Hand der Originalarbeiten einen möglichst guten Überblick über das Problem verschaffen zu können:

H. Fischer⁷ extrahiert das Blei neben Wismut im normalen Gang mit dem Unterschied, daß er die Cyanidgaben erhöht (10% KCN statt 5%) und den Bleiextrakt dann mit 1%iger KCN-Lösung so lange wäscht, bis die wäßrige Schicht farblos ist. Auf diese Weise soll man noch 0,5 µg Blei neben 1 mg Wismut nachweisen können. Für die quantitative Bestimmung von Blei neben Wismutmengen bis zu 1 mg schlägt er neben diesen Angaben^{7, 8} die vorherige Abtrennung der Hauptmengen Wismut bei pH 3 durch Dz-Extraktion vor und schließt daran bei pH 9 und einem KCN-Überschuß die Bleiextraktion, ohne auf Spuren Wismut noch Rücksicht zu nehmen, die in dieser alkalischen Lösung nicht mehr reagieren.

H. Taeger⁹ beruft sich auf H. Fischer und G. Leopoldi⁸, die bereits darauf hinwiesen, es sei „in Gegenwart von Zinn und Wismut ohne jede weitere Trennung das Blei quantitativ zu bestimmen, sofern die Menge dieser Metalle die zu bestimmende Bleimenge nicht um mehr als das Zwei- bis Dreifache übersteigt, und die gefärbte organische Phase oft (drei- bis viermal) mit einer 1%igen KCN-Lösung gewaschen wird...“^{10, 11}.

In der amerikanischen Literatur wird eindeutig der Wismutentfernung bei pH 2 bis 3,5 und der anschließenden Endbestimmung des Bleis der Vorzug gegeben. Die gebrachten Beleganalysen beweisen, daß es möglich ist, bis zu 0,5 mg Wismut durch eine Vorextraktion zu entfernen. Bei Wismutmengen von mehr als 500 µg werden entsprechend kleinere Teile verwendet, um unter diesen kritischen Bereich zu kommen¹²⁻¹⁶.

Die Methode der Wismutextraktion bei geringem pH wurde von uns an Testlösungen erprobt. Wir haben dabei gute Werte erhalten. Für die Wahl der Wismutentfernung durch eine Vorextraktion waren uns folgende Gründe maßgebend:

1. Die Vorextraktion bei pH 2 ist so einfach und schnell durchzuführen und die überprüften Beleganalysen zeigten so befriedigende Ergebnisse und Übereinstimmung mit den Literaturangaben, daß darin Grund genug lag, von weiteren Testmessungen guten Gewissens absehen zu können.

2. Schon die einmalige Behandlung der Bleiextrakte mit 1%iger KCN-Lösung führt, wie wir im weiteren Verlauf der Untersuchungen zeigen werden, unweigerlich zu Bleiverlusten, erst recht mehrmalige KCN-Behandlungen. Es besteht mithin die Gefahr, daß durch Wismut bedingte höhere Werte eventuell durch einen Bleiverlust mehr oder minder kompensiert oder sogar überkompensiert werden. Die Vorextraktion ist daher als die exaktere Methode anzusprechen.

Verschiedene Ausführungsformen der Dithizonbestimmung.

Die Anwendung kann im kolorimetrischen Einfarbenverfahren, im kolorimetrischen Mischfarbenverfahren oder als Titrationsmethode erfolgen. Die zu untersuchende mineralisierende Lösung, deren Bleigehalt bis zu zirka 150 µg betragen darf und die zur Überführung von Ti(I) in Ti(III) und Sn(II) in Sn(IV) vorher oxydiert wurde, wird hierauf mit Ammoniak bis zur neutralen bzw. schwach alkalischen Reaktion versetzt und durch Zugabe von Citrat die Abscheidung von unlöslichen Metallhydroxyden unterbunden. Zur Maskierung von Zink wird Kaliumcyanid, und zur Verhütung einer Oxydation des Dz Hydroxylamin-Chlorhydrat zugesetzt. Hierauf wird mit einer Lösung von Dz in Tetrachlorkohlenstoff solange extrahiert, bis die ursprüngliche Grünfärbung des Dz bestehen bleibt.

Beim Einfarbenverfahren wird nun das überschüssige Dz durch wiederholtes Schütteln mit alkalischen Waschflüssigkeiten entfernt, und entweder die rote Bleidithizonat-Lösung oder das daraus durch Ansäuern in Freiheit

gesetzte, dem Metall äquivalente, grüne Dz photometriert. ~

Im Gegensatz dazu wird beim Mischfarbenverfahren, die aus dem grünen Dz-Überschuß und dem roten Bleidithizonat bestehende Mischfarbe kolorimetriert. Für dieses Verfahren muß das Dz in Chloroform gelöst werden, da im neutralen bzw. alkalischen Bereich das Dz aus Chloroform bedeutend weniger in die wäßrige Phase übergeht als dies bei Tetrachlorkohlenstoff als Lösungsmittel der Fall ist. Ferner ist eine Vorextraktion zur ungefähren Bestimmung des Bleiwertes unerlässlich, da es notwendig ist, für die einzelnen Bleibereiche (0 bis 10, 0 bis 50, 0 bis 100 μg) korrespondierende Lösungen von Dz in Chloroform zu verwenden¹⁷⁻¹⁹.

Der Wert der Titrationsmethode ist für Serienbestimmungen fraglich. Sie wird daher nur angeführt und hinsichtlich näherer Angaben auf die Literatur verwiesen^{12, 20, 21}.

Wir haben unseren Serienbestimmungen die Einfarbenmethode zugrunde gelegt. Es war aber notwendig, die Bedingungen, unter denen sie ausgeführt wird, genau festzulegen bzw. zu überprüfen.

Die Bedeutung des pH-Wertes für die quantitative Extraktion des Bleis mit Dithizon.

Da die Extraktion des Bleis erst bei einem Wert von pH 4 beginnt, ist es notwendig, die saure Analysenlösung vor der Extraktion zu neutralisieren. Dafür werden nun von einzelnen Autoren verschiedene Indikatoren mit deutlich verschiedenen Umschlagsbereichen angeführt. Da nähere Erläuterungen oder Messungen nicht angeführt werden, wurde die Abhängigkeit der Extraktion vom pH-Wert der Lösung untersucht.

Als Grundlage für die Darstellung dieser Abhängigkeit soll die Extraktion von 16,2 μg Blei bei verschiedenen pH-Werten gewählt werden.

Die Analysenlösung enthielt folgende Zusätze:

- 10 ml Na-Citrat-Lösung, 10%ig,
- 5 ml KCN-Lösung, 5%ig,
- 5 ml $\text{NH}_4\text{OH} \cdot \text{HCl}$, 10%ig.

Extrahiert wurde mit 5 ml einer Dz-Lösung, die 5 mg % Dz gelöst in Tetrachlorkohlenstoff enthielt, durch 2 Minuten langes Schütteln. Nach Trennung der Phasen wurde mit reinem CCl_4 nachgewaschen und die vereinigten Extrakte mit Ammoniak (1 : 200) gewaschen. Einmal wurde daraufhin mit 10 ml 0,5%iger KCN-Lösung und nachfolgend mit weiteren 5 ml 0,5%iger KCN-Lösung geschüttelt. Die gesammelten Waschflüssigkeiten wurden zweimal mit je 2 ml reinem CCl_4 nachgewaschen. Die vereinigten Extrakte, einmal mit 10 ml bidest. Wasser gewaschen, wurden in einen zweiten Scheidetrichter übergeführt und mit 10 ml 1%iger HNO_3 geschüttelt, filtriert, auf 20 ml aufgefüllt und im Pulfrich-Photometer gemessen (Filter S 61).

Der pH-Wert wurde nach erfolgter Extraktion gemessen:

Röhrenvoltmeter: Andreatta, Innsbruck.

Meßkette: Glaselektrode (Ag-AgCl) ges. Kalomelektrode.

Meßgenauigkeit: $\pm 0,02$ pH.

Alle angegebenen eigenen pH-Werte wurden mit diesen Einrichtungen und unter diesen Bedingungen gemessen und auf Temperatur und Alkalifehler korrigiert.

Die Abhängigkeit der Extinktionswerte E vom pH der Extraktionslösung bei einem Bleigehalt von 16,2 μg zeigt Abb. 1.

Die ersten meßbaren Bleiwerte treten bei einem pH von ca. 5,7 auf und sind wegen der Kleinheit ihrer Extinktionswerte naturgemäß ziemlich ungenau (gestrichelter Kurvenanfang). H. Fischer²² gibt an, daß bereits bei einem pH von 3,6 bis 4,0 Mengen bis zu 1 μg Blei gefunden wurden. Selbst wenn diese Spuren schon bei einem so tiefen pH-Wert der zu extrahierenden Lösung aufträten, könnte man sie unter den angegebenen Bedingungen nicht nachweisen, da die Löslichkeit des Bleidithizonats in den alkalischen Waschflüssigkeiten ungefähr in dieser Größenordnung liegt. Von pH ~ 6 an erreicht man Extinktionswerte, die den Meßgenauigkeiten genügen. Die Kurve steigt steil an und erreicht bei pH 7 ihren Maximalwert, d. h. vollständige Extraktion. Wie die Kurve 1 also zeigt, wird bei einmaliger Extraktion mit 5 ml einer 5 mg%igen Dz-Lösung in CCl_4 mit der 2 Minuten kräftig geschüttelt wurde, erst bei einem pH-Wert von 7 der Endwert der Extraktion erreicht. Bei einmaligem Nachschütteln mit der gleichen Dz-Lösung unter denselben Bedingungen verläuft die Kurve steiler und erreicht bei pH 6,7 den Grenzwert: Kurve 2. Die Verhältnisse beim dritten Ausschütteln zeigt

Kurve 3. Man sieht also, daß bei dreimaligem Ausschütteln einer Bleimenge von $16,2 \mu\text{g}$ mit einer Dz-Lösung von $5 \text{ mg}\%$ bei einem pH-Wert von ca. 6,5 vollständige Extraktion erreicht wird. Die Verhältnisse sind bei Anwendung konz. Dz-Lösungen etwas anders; denn bei einem größeren Dz-Überschuß reagiert Blei schneller und die Kurve 1 rückt weiter an die Kurve 2 und so fort, ohne die Grenzverhältnisse, die durch Kurve 3 gegeben sind, wesentlich zu verändern.

Die Anwendung eines großen Dz-Überschusses ist insofern ungünstig, als die Empfindlichkeit des Dz bei höherer Konzentration geringer²³, die Endpunkterkennung erschwert wird und natürlich das überschüssig zugeführte Dz nach vollendeter Extraktion wieder entfernt werden muß. Die dazu verwendeten größeren Mengen alkalischer Waschflüssigkeit bringen Komplikationen mit sich, die im folgenden Abschnitt näher beschrieben werden.

Im pH-Gebiet 7 bis 10 wird die Menge von $16,2 \mu\text{g}$ Blei durch eine einmalige Extraktion vollständig extrahiert. Die ansteigende Kurve geht in eine Gerade über. Es ist dies das günstigste Extraktionsgebiet, in dem bei geringstem Aufwand an Zeit und Reagenslösung vollständige Extraktion erreicht wird.

Von pH ~ 10 an zeigt sich, wie unter anderem auch H. Fischer⁷ angibt, daß das Bleidithizonat einer mehr oder minder weitgehenden Zersetzung unterliegt. Infolge der starken Pufferwirkung in diesem Gebiet sind pH-Werte über 10 nur durch große Mengen an konz. Ammoniak zu erreichen. Oberhalb pH 10,5 wurde daher nicht mehr gemessen. Bei günstig gewählten Indikatoren ist es kaum möglich, diesen kritischen pH-Wert zu überschreiten. Weitere Messungen in diesem Bereich wurden aber vor allem deshalb nicht gemacht, weil im folgenden Teil die Einwirkung von alkalischen Waschlösungen (die also eindeutig und leicht erreichbar in pH-Gebieten über 10 liegen) auf das Bleidithizonat untersucht wird.

Ein weiteres Übel der Extraktion bei pH-Werten unter 7 ist, daß beim Ausschütteln oft kräftige Dz-Rotfärbungen erhalten werden, die mehrmalige Extraktionen notwendig machen und größere Bleimengen vermuten lassen. Bei KCN-Behandlung der Extrakte, wobei die Rotfärbungen sehr oft fast ganz verschwinden, stellt sich dann heraus, daß die mehr oder minder intensive Farbe gar nicht, bzw. nur teilweise von anwesendem Blei stammt, sondern von einem mitextrahierten Begleitstoff herrührt. Die Farbe und ihre KCN-Empfindlichkeit wiesen schon auf Zink hin, identifiziert und vermessen wurde es polarographisch. Aus den erhaltenen Werten ließen sich keine Regelmäßigkeiten erkennen, weshalb von ihrer Veröffentlichung abgesehen wird. *Die Tatsache aber wurde bestätigt: In schwachsaurem Gebiet wird aus Lösungen, die KCN enthalten, mit Blei auch Zink extrahiert; dieses kann somit höhere Bleiwerte vortäuschen*²⁴. Durch KCN-Waschungen wird das Zink zwar wieder vollständig entfernt; das ändert aber nichts daran, daß es die Abschätzung der ungefähren Bleiwerte unmöglich macht, die Endvolumina vergrößert und durch lange Extraktionsdauer einen beträchtlichen Mehraufwand an Zeit und Arbeit veranlaßt. Ein vergrößerter KCN-Zusatz ändert daran nichts, falls man damit im sauren Bereich bleibt. Erst wenn man einen höheren pH-Wert als 7 einstellt bzw. durch die zusätzlichen Gaben von KCN ins alkalische Gebiet kommt, gelingt es, das Zink vollständig zu maskieren. Auch hier ist es also möglich, durch geeignete Wahl des Indikators zusätzliche Mengen KCN zu vermeiden. Die Erscheinung ist wahrscheinlich damit zu erklären, daß im sauren Gebiet die Cyanionen-Konzentration zur Maskierung des Zinks nicht ausreicht.

Nach den Messungen ergab sich für die Extraktion des Bleis mit Dz, gelöst in CCl_4 , als optimaler Bereich das Gebiet zwischen pH 7 und 10. Dies ist für die Auswahl der für die Neutralisation in Frage kommenden Indikatoren von Bedeutung.

Wir verwendeten Thymolblau, das ein Umschlagsgebiet von pH 8,0 bis 9,6 und eine Halbwertstufe von pH 8,89 hat. Der naheliegende Einwand, daß der Grenzwert des Thymolblauumschlages von 9,6 ja auch bedenklich nahe am ebenfalls absteigenden alkalischen Ende der Kurve liegt (pH ≥ 10), kann damit beantwortet werden, daß man bei

genauem Neutralisieren zu einem pH -Wert gelangt, der etwa dem Halbwertstufenwert des Indikators entspricht. Außerdem befindet man sich im kritischen Gebiet von $pH > 10$ in einem Bereich ausgezeichneter Pufferung, so daß selbst ein größerer Zusatz von konz. Ammoniak den pH -Wert praktisch nur wenig verändert.

Von dem Gebrauch von Bromkresolpurpur als Indikator (Umschlagsgebiet pH 5,2 bis 6,8; Halbwertstufe pH 6,27), wie ihn unter anderem auch *H. Taeger* in seiner umfassenden Bleiarbeit empfiehlt⁹, ist abzuraten. Von der unpraktischen Mehrarbeit einer dreimaligen Extraktion, vom Dz-Verbrauch und von der Vergrößerung des Endvolumens abgesehen, liegt der Nachteil des gewählten pH -Gebietes darin, daß es nur möglich ist, zu pH -Werten $< 6,2$ zu gelangen, bei denen eine vollständige Extraktion nicht mehr zu erreichen ist.

Es ist darauf hinzuweisen, daß auch *H. Fischer*⁷ Thymolblau als Indikator empfiehlt und daß bereits *H. Müller*²⁴ als das günstigste Extraktionsgebiet das Milieu zwischen pH 7 und 10 bezeichnete. Leider genügten die sechs Extinktionswerte, die er für 20 μg Blei bei pH -Werten von 7,0, 8,0, 8,8, 9,6, 10,2 und 11 anführte, nicht zur Konstruktion einer Kurve der beschriebenen Art und nicht dazu, die Verhältnisse mit genügender Übersicht zu verfolgen.

Bleiverluste durch alkalische Waschflüssigkeiten.

Nach erfolgter Extraktion des Bleis durch Dz muß bei der Einfarbenmethode die organische Phase mit Lösungen behandelt werden, deren pH eindeutig über 10 liegt, und zwar:

1. Zur Entfernung des überschüssigen Dz;
2. Zur Entfernung eventueller Spuren von Zn, Bi, Sn, Tl.

Dies erfolgt unter Verwendung von stark verdünntem Ammoniak bzw. von verdünnten KCN-Lösungen.

Namentlich in den älteren Vorschriften *H. Fischers*^{2, 4, 5} und anderer Autoren^{9, 10, 24} wird eine sehr verdünnte Ammoniaklösung (1:200) zur Entfernung des überschüssigen Dz empfohlen. Je nach der Größe des Dz-Überschusses sollen mehr oder weniger Ausschüttelungen mit NH_3 vorgenommen werden, bis die wäßrige Phase keine Gelbfärbung mehr zeigt. Die Gelbfärbung ist auf das überschüssige Dz, das als Alkalisalz in Lösung geht, zurückzuführen. Die Waschungen mit Ammoniak sind jedoch ohne weiteres vermeidbar. Die Unumgänglichkeit der KCN-Waschung (Zn, Bi, Tl, Sn-Entfernung) führt ohnehin in alkalisches Gebiet, indem Bildung von wasserlöslichem Dz-Alkalisalz eintritt. Die Alkalität einer 1- bzw. 0,5%igen KCN-Lösung führt also neben der Entfernung von Verunreinigungen zur Überführung von freiem, überschüssigem Dz in sein Alkalisalz und damit zu seiner restlosen Entfernung. Als Beweis dafür wird in Abb. 2 die Abnahme der Extinktionswerte dreier verschiedener Dz-Lösungen (Ausgangsmenge: 5 ml) durch einmaliges, 15 Sekunden dauerndes Ausschütteln mit Puffern bei verschiedenen Wasserstoffionen-Konzentrationen dargestellt.

Nach *H. Fischer*⁷ soll aus CCl_4 Dz merklich erst bei pH 10 übergehen. Wie man sieht, liegen die Verhältnisse tatsächlich günstiger, denn bei einem pH -Wert von 10 findet man von einer Dz-Lösung der Extinktion 1,648 bei einmaligem Ausschütteln nur mehr ca. 7%. Bei einem $pH > 11$ (z. B. in 0,5%iger KCN-Lösung) wäre überschüssiges Dz durch eine einmalige Extraktion restlos entfernt worden. Trotzdem wurde an der von *H. Fischer* selbst geübten, wenn auch nicht besonders erwähnten Gewohnheit festgehalten, zweimal mit 0,5%iger KCN-Lösung zu waschen, um Fehler durch eventuelles Zurückbleiben von Dz ganz sicher zu vermeiden.

Die besonderen Daten der Bleiverluste durch NH_3 -Waschungen werden an dieser Stelle übergangen, weil im nachfolgenden Teil der Einfluß von KCN-Lösungen auf das Bleidithizonat diskutiert wird. Beide Effekte sind durch ein $pH > 10$ bedingt und die Verlustwerte durch NH_3 -Waschungen sind, wenn man den pH -Wert der Ammoniaklösung kennt (NH_3 1:200 ist ein verhältnismäßig ungenauer Begriff), ohne weiteres an der korrespondierenden KCN-Verlustkurve abzulesen.

Wie bereits erwähnt, bewirkt das Waschen mit KCN-Lösungen verschiedenen Prozentgehaltes einestails die Entfernung von Spuren Zn, Bi, Tl und Sn, andernteils wird überschüssiges Dz entfernt. Anfangs wurde von uns eine 1%ige Lösung von KCN als Waschflüssigkeit verwendet. Dabei wurde bemerkt, daß Bleitestwerte um so tiefer lagen, je öfter sie mit dieser Lösung geschüttelt wurden. Auch geringe Rotfärbungen von Extrakten (namentlich bei Blindwertbestimmungen) verschwanden nach der Behandlung mit 1%iger KCN-Lösung und wurden daher vielfach als Fremdstoffe bezeichnet. Erst Versuche mit reinsten Bleilösungen und frisch destilliertem NH_3 zeigten, daß weder Zink- noch Thallium-Verunreinigungen das Verschwinden bzw. Abnehmen der Rotfärbungen erklären konnten, sondern daß sich der Angriff des KCN in einem bestimmten Maße gegen das Bleidithizonat selbst richtet. Versuche mit Puffern ließen auch bald erkennen, daß es sich nicht um ein spezifisches Verhalten des Kaliumcyanids bzw. seiner Ionen handeln konnte, sondern daß die Erklärung in einer gewissen pH-Empfindlichkeit des Bleidithizonats liegen müsse. Auch die daraufhin durchgesehene Literatur wies in diese Richtung^{17, 24, 25}. Selbst H. Fischer schreibt⁷, daß das Bleidithizonat bei $\text{pH} > 10$ mehr oder weniger Zersetzung erleidet, und macht Angaben über den absoluten Bleiverlust bei 19,6 μg . Es wurden nun Versuche unternommen, die Verluste durch KCN-Waschungen mengenmäßig festzustellen. Die Ergebnisse werden an einer Bleilösung der Extinktion 0,2281 gezeigt, die mit 10 ml Cyanidlösung verschiedenen Gehaltes und daher verschiedenen pH-Wertes, einmal 10 Sekunden lang ausgeschüttelt wurde (Abb. 3).

Die Bleiverluste beginnen bei einem pH-Wert von ca. 10,3 über den Streuungsfehler hinauszugehen und erreichen bei pH 11,2 die Toleranzgrenze von 10%. Nimmt man nun an, daß eine 1%ige KCN-Lösung ein pH von etwa 11,7 hat (eine genauere Zahl ist hier nicht anzugeben), so sieht man aus der Darstellung, daß bereits eine einmalige Waschung mit dieser Lösung im angegebenen Bereich einen Fehler von ca. 16,5% verursacht. Unter der Voraussetzung, daß KCN-Waschungen unvermeidlich sind, muß man also bestrebt sein, einen pH-Wert einzuhalten, der höchstens einen Verlust innerhalb der 10%igen Toleranz verursacht. Eine frisch bereitete 0,5%ige KCN-Lösung hat nun z. B. nach eigenen Messungen einen durchschnittlichen pH-Wert von 11,2 und eignet sich daher besser. Am besten zu empfehlen ist, die KCN-Lösung auf einen pH-Wert von 11 einzustellen, da dann neben den geringeren Verlusten die Entfernung von Spurenverunreinigungen noch vollkommen gewährleistet ist. Der triftige Einwand, daß sich bei gleichartig behandelten Proben der Fehler selbst eliminiert, müßte für genaueste Bestimmungen und Eichgerade dahingehend präzisiert werden, daß man außer den minutiös gleichen Mengen an Waschflüssigkeiten auch deren pH-Werte zeitweilig kontrolliert (KCN verändert diesen) bzw. bei neuangesetzten KCN-Lösungen diesen Wert bestimmt oder jeweilige Korrekturen errechnet. Besonders problematisch sind Angaben, die z. B. für Blei-Wismut-Trennungen anführen: „Die gefärbte organische Phase wird oft (drei- bis viermal) mit einer 1%igen KCN-Lösung gewaschen, bis die überstehende Phase farblos bleibt“, die wörtlich aus H. Taegers Zusammenstellung⁹ zitiert wird, die aber auf H. Fischer zurückgeht⁷. Wieweit eine Wismutverunreinigung hierbei durch einen Bleiverlust kompensiert wird bzw. wie groß die Bleiverluste sind, ist dabei ungeklärt. Darum: Wenn Eichkurven unter gleichen Bedingungen nicht vorliegen oder keine Korrekturen errechnet wurden, muß auf der Entfernung des Wismuts durch eine Vorextraktion bestanden werden.

Eine weitere Folge dieser Verluste ist, daß Mengen von $\text{Pb} \leq 1,5 \mu\text{g}$ auch theoretisch nicht mehr zu bestimmen sind. Die praktischen Grenzwerte sind durch den Filterfehler des Photometers und die verschwindend geringen Farbintensitäten gegeben. Die Testkurven gehen daher nicht durch den Ursprung, wie z. B. H. Taeger angibt⁹, sondern schneiden die Abszisse in einem bestimmten Abstand von der Ordinate, der in erster Linie von der Zahl der Ausschüttelungen mit alkalischen Waschlösungen, und dem pH-Wert, bei denen sie erfolgten, abhängt. Dieser Effekt ist wohl zu unterscheiden von einer unvollständigen Extraktion,

die ein ähnliches Bild mit meist größeren Abweichungen gibt. Es handelt sich hier um einen Differenzbetrag, der bei sorgsamst eingehaltenen Bedingungen durch mehr oder minder große Bleiverluste in der alkalischen Waschflüssigkeit entsteht. Bei Blindwertbestimmungen muß z. B. durch geeignete Wahl des Ausgangsvolumens dieser Tatsache Rechnung getragen werden.

Abschließend kann an Hand der Meßergebnisse nochmals darauf hingewiesen werden, daß

1. die alkalischen Waschflüssigkeiten in genau abgemessenen, gleichen Mengen unter zeitweiliger bzw. informativer Kontrolle ihres pH-Wertes angewendet werden müssen oder die Verwendung von Puffern in Betracht zu ziehen ist; daß

2. Differenzen, die die verlangte Genauigkeit überschreiten, in Rechnung gestellt werden oder Meßwerte nur an Hand gleichermaßen (Volumen, Prozentgehalt und pH-Wert der Waschlösungen) hergestellter Eichkurven verglichen werden dürfen, und daß

3. bei Anwesenheit von Wismut dieses durch eine vorangehende Vorextraktion, nicht aber durch gesteigerten Verbrauch alkalischer Waschflüssigkeiten entfernt werden muß.

II. Die Bestimmung von Mikrogrammengen Blei auf polarographischem Wege.

Da die Grundlagen der Polarographie als bekannt vorausgesetzt werden dürfen²⁰⁻²⁹, braucht hier nur kurz zusammengefaßt werden:

Die polarographische Bleibestimmung ist einfach und genau durchzuführen. Die Bleistufe ist sehr genau zu bestimmen^{30, 31}, läßt bezüglich der Elektrolyte weiteste Wahl und ist gut neben anderen Metallionen meßbar. Das Sauerstoffmaximum ist leicht zu dämpfen, wenn man einige Vorsichtsmaßregeln beachtet^{32, 33}. Wir verwendeten als Dämpfungsmittel 0,01%ige Gelatinelösung, die mit Toluol stabilisiert war. Der Sauerstoff ist durch einen inerten Gasstrom leicht auszutreiben^{30, 31}. Die Grund- und Grenzströme sind gut ausgebildet und die Halbstufenpotentiale in den verschiedenen Elektrolytlösungen liegen günstig. Zur Bestimmung von Mikrogrammengen Blei muß der Kondensatorladungsstrom kompensiert werden, was mit Hilfe der Kompensationsmethode von D. Ilkovič und G. Semerano³⁴ zufriedenstellend gelingt. Die konzentrationsabhängige Stufenhöhe wurde nach der exakten Methode^{18, 30} gegen den Reststrom vermessen. Die Galvanometerschwingungen wurden durch einen parallel zum Galvanometer im Nebenschluß geschalteten Kondensator (Elko) von 2000 Mikrofard gedämpft³⁵. Als Polarograph wurde das Gerät der Fa. E. Leybold, Köln, mit photographischer Registrierung verwendet. Als Galvanometer diente ein Instrument der Fa. Hartmann & Braun mit der Empfindlichkeit $E = 2,6 \times 10^{-9}$ Amp./mm bei 1 m Entfernung von der Phototrommel.

Grundelektrolyte:

Da die Bleibestimmung in saurer, neutraler und alkalischer Lösung möglich ist, kann sich die Wahl der Grundlösungen nach den Gesichtspunkten größter Meßgenauigkeit und praktischester Arbeitsmethodik richten. Darüber hinaus ergibt sich die Möglichkeit, durch Wahl verschiedener Grundelektrolyte neben Blei noch andere Elemente bestimmen zu können. Im Rahmen unserer Untersuchungen wurde hauptsächlich mit Salzsäure bzw. Salpetersäure als Grundelektrolyte gearbeitet, da hiemit die Aufarbeitung der Untersuchungssubstanzen erleichtert wurde und gut ausgebildete Bleistufen mit günstigen Wellenhöhen erhalten wurden.

Die Koinidenzen von Blei mit Wismut, Zinn und Thallium bei der polarographischen Bestimmung:

Da hier vor allem Metalle interessiert sind, mit deren Vorkommen in biologischem Material gerechnet werden mußte, sei es, daß sie als normale Begleitstoffe, als Verunreinigungen (Konserven, Geschirr usw.) oder als Vergiftungen aller Grade auftreten, werden in Tabelle I die Halbstufenpotentiale der vor allem interessierenden Metalle Bi, Zn, Sn und Tl neben Blei in verschiedenen Grundelektrolyten angeführt. Die Potentialangaben sind in Volt gegen die bei 25° C an KCl gesättigte Kalomel-elektrode angegeben.

Tabelle 1.

Elektrolyt	Pb ²⁺	Bi ³⁺	Zn ²⁺	Sn ^{4+→2+}	Tl ⁺
1-n HCl	-0,43	-0,09	H ⁺	—	-0,49
1-n HNO ₃	-0,40	-0,01	H ⁺	—	-0,47
1-n HNO ₃	-0,48	-0,29	-1,23	—	-0,47
Saure Tartratlösung	-0,76	—	-1,53	—	-0,49
1-n NaOH	-1,32	-(1,0)	-1,42	—	-0,49
Alkalische Tartratlösung	-0,40	—	-1,0	—	-0,47
0,1-n KCl					

Bi: Wie man aus der Tabelle ersieht, ist die Bleibestimmung neben Wismut in allen sauren Grundelektrolyten und in Tartratlösungen ohne weiteres möglich, wenn kein Wert auf Angaben über den Wismutgehalt gelegt wird, auch in alkalischen Elektrolyten. Die Schwierigkeiten der Wismutkoinzidenzen, wie sie bei der Dz-Methode, auftreten fallen bei der polarographischen Methode vollständig weg.

Zn: In sauren Elektrolyten liegen die Zinkstufen so negativ, daß sie von der Wasserstoffionen-Entladung überdeckt werden. In Tartratlösungen und in 0,1-n-KCl-Lösungen ist eine gleichzeitige Bestimmung von Zink neben Blei möglich.

Sn: Sn(IV), wie es im Laufe der Aufarbeitung erhalten wird, ist in den angegebenen Elektrolyten nicht zu Sn(II) reduzierbar, fällt also als störender Begleitstoff überhaupt aus. Die Reduktion ist nur in stark saurem Medium (6-n HCl) bzw. in NH₄Cl-Puffern möglich, oder es muß auf die Reduktionsstufe Sn(II) → Sn(0) oder die Oxydationsstufe Sn(II) → Sn(IV) zurückgegriffen werden³⁸.

Tl: Die Bestimmung von Thallium neben Blei ist in alkalischen Elektrolyten bzw. in alkalischen Tartratlösungen möglich. Bezüglich einer gleichzeitigen Bestimmung von Blei neben Thallium sei auf die Arbeit von E. Weinig³⁷ verwiesen.

Störungen durch Koinzidenzen treten im Gegensatz zur Dz-Methode, bei der polarographischen Bleibestimmung also nicht auf. Damit fallen nicht nur umständliche Modifikationen zur Vermeidung von Fehlerquellen weg, sondern man kann darüber hinaus einzelne Begleitstoffe in einer einzigen Aufnahme nebeneinander erkennen und bestimmen.

Polarographische Gefäße:

Für die Bestimmung von Mikrogrammengen Blei war es notwendig, in Elektrolysengefäßen mit getrennter Gegenelektrode zu arbeiten, da es sonst (hauptsächlich durch Passivierung der Anoden) gleich zu Beginn der polarographischen Aufnahme zu Stromanstiegen kam. Damit wurde die Verwendung hoher Galvanometer-Empfindlichkeiten unmöglich gemacht und es kam zur Ausbildung von nur schlecht meßbaren Grundströmen.

Die Diaphragmengefäße von G. Massen³⁸ mit einem G-4-Filter von Schott und Gen. sind für exakteste Bestimmungen ungünstig, da ihre Filter nicht so dicht sind, daß ein Durchtritt von Lösungsmittel verhindert wird. Dichtere Fritten sind wegen des zu großen Widerstandes im Stromkreis nicht statthaft. Auch für die Verwendung kleinster Flüssigkeitsmengen, wie sie für die Bestimmung kleinster Bleimengen verwendet werden müssen, sind die Massenschen Gefäße etwas zu plump.

Die namentlich für wissenschaftliche Zwecke verwendeten Elektrodengefäße, wie z. B. die von M. Kalousek³⁹, A. Langer⁴⁰, H. K. Beecher und Mitarb.⁴¹ und auch das Gefäß von J. J. Lingane⁴² sind hingegen für Routinebestimmungen wieder zu kompliziert, vor allem aber schlecht zu reinigen. Für unsere Zwecke wurde deshalb ein einfaches Elektrolysengefäß konstruiert, das genügend dicht gegen die Gegenelektrode ist, die Verwendung kleiner Volumina ermöglicht und leicht zu reinigen ist (Abb. 4).

Das Gefäß besteht aus zwei Teilen: dem eigentlichen Elektrolysegefäß A und der Gegenelektrode B, die durch einen Normalschliff NS miteinander verbunden sind. Der Schliffkegel von B ist so in den Schliffmantel von A eingesetzt, daß seine Spitze mit der Innenwand von A abschließt. Die Spitze selbst ist durch einen Agarpfropf verschlossen, der den Übergang von Lösung zwischen Gegenelektrode und Elektrolysegefäß verhindert.

Nach Gebrauch ist der Teil A leicht von B abzuziehen und kann dann in der üblichen Weise durch Auskochen mit Salpetersäure gereinigt werden. Der Agarpfropfen in der Spitze des Schliffkegels von B wurde in gleicher

Dicke (Widerstand) erhalten, indem er aus einem in einem großen Wägegglas erstarrten Agar-Gel ausgestochen wurde. Als Gegenelektrode dient eine gesättigte Kalomelektrode. Agar-Gel: 3%ige Agargallerte mit 0,1-n KCl gequollen. Für die Verwendung größerer Elektrolytvolumina (bis zu 5 ml) wurde ein gleichgebautes Zusatzröhrchen verwendet, das auf den Normal-schliff NS aufzusetzen ist.

Methoden zur Anreicherung von Blei für die polarographische Bestimmung.

Für die Bestimmung von Mikrogrammengen Blei ist es meist notwendig, das Blei durch geeignete Methoden anzureichern. Falls dies durch einfaches Eindampfen möglich ist, kann die beliebig kleine Endlösung direkt polarographiert werden. Andernfalls (wie z. B. bei Untersuchungen von biologischem Material) wurden von uns folgende Anreicherungsverfahren verwendet:

1. Mitfällung.

Als allgemein geübte analytische Methode kann die Kenntnis dieser Anreicherungsform vorausgesetzt werden. So wird z. B. bei der Analyse von Harnen durch eine im essigsauren Milieu erzeugte Calciumoxalat-Fällung das Blei quantitativ erfaßt. Nach Verglühen des dekantierten und getrockneten Niederschlages wird dieser in Säuren gelöst und kann direkt polarographiert bzw. einer nochmaligen Reinigung (z. B. durch Dz) unterzogen werden.

2. Anreicherung mit Dithizon.

Das Blei wird mit Dz erschöpfend extrahiert, hierauf das Bleidithizonat ohne weitere Reinigung mit Säuren zersetzt, mit CCl_4 gewaschen (Dz-Entfernung) und auf ein definiertes Volumen aufgefüllt. Eingeengt bzw. eingedampft und mit einem beliebig gewählten Elektrolyten aufgenommen, ist die Lösung zur polarographischen Bestimmung bereit.

Diese namentlich für Präzisionsmessungen und Bestimmung kleinster Bleimengen ($\sim 0,1 \mu\text{g}$) am besten zu empfehlende Methode liefert, da sie reine Bleiendösungen ergibt, genauest einzuhaltende Elektrolyt-Normalitäten verbürgt und frei von Salzballast ist, die exaktesten Werte. Zum Abschluß seien kurz die Punkte zusammengestellt, die diese Ausführungsform der Bleibestimmung an Genauigkeit, Raschheit und Einfachheit von der reinen Dz-Bestimmung unterscheidet:

1. Größere Genauigkeit und erweiterte Nachweisgrenze durch Vermeidung der die Dz-Methode begrenzenden Verluste durch alkalische Waschflüssigkeiten;

2. Konstante Werte durch geringere Gefahr von Einschleppung oder Verlusten von Blei durch wesentlich weniger Reagenszusätze und Einzeloperationen.

3. Einsparung von Zeit, Arbeit und Kosten durch Wegfall von speziell zu reinigenden Analysenchemikalien.

4. Vermeidung von Vorextraktionen für die Entfernung von Wismut. Polarographische Bestimmung einzelner Metallionen nebeneinander.

Die in der Literatur⁴³⁻⁴⁵ beschriebenen Methoden der elektrolytischen Bleianreicherung konnten von uns wegen apparativer Schwierigkeiten nicht erprobt werden.

Versuche mit organischen Austauschern verliefen leider negativ, da trotz weitestgehender Variierung von Waschwassermenge, Filtergeschwindigkeit und Säurekonzentration $50 \mu\text{g}$ Blei z. B. nicht mehr quantitativ aus der Säule ausgewaschen werden konnten.

Die polarographische Bestimmung von Blei neben dreiwertigem Eisen.

Eine direkte polarographische Bestimmung von Blei in Lösungen des Eisen(III) enthalten ist nur in komplexbildenden Grundelektrolyten bei $\text{pH} > 7$ günstig, da die Fe(III)/Fe(II)-Stufe so weit positiv liegt, daß die Polarogramme sofort mit dem Anstieg der Eisenstufe beginnen. Damit tritt der Fall ein, daß die Bleistufen auf den hohen Eisen-Vorstufen aufsitzen und durch eine Erhöhung der Galvanometerempfindlichkeit nicht genügend vergrößert werden können, da die Vorstufen im gleichen Maße vergrößert werden und damit sehr oft der Ausschlagbereich des

Spiegel-Galvanometers überschritten wird.

In den komplexbildenden Grundelektrolyten Citrat und Tartrat ist die Fe(III)/Fe(II) -Stufe verschoben. Ihre Halbstufenpotentiale betragen nach *J. J. Lingane*⁴⁶ in

0,5-m Citrat pH 4: $-0,04 \text{ V}$
 0,5-m Citrat pH 7: $-0,37 \text{ V}$
 0,5-m Citrat pH 10: $-0,90 \text{ V}$
 0,5-m NH_4 -Tartrat + 1-n NH_3 : $-1,00 \text{ V}$.

In sauren Tartratlösungen treten die gleichen Stufen wie in sauren Citratlösungen auf. In neutralen Tartratlösungen treten zwei Stufen auf, die auf ein gehemmtes Gleichgewicht zwischen den sauren und neutralen Tartratkomplexen zurückzuführen sind⁴⁷ und deren komplizierte pH-Abhängigkeiten den Elektrolyten für Serienbestimmungen wenig tauglich machen. In alkalischen Tartratlösungen ist die Fe(III)/Fe(II) -Stufe wieder gut ausgebildet⁴⁸ und negativer als die Bleistufe. Für die exakte Bestimmung von geringen Mengen Blei neben Eisen(III) ist es also notwendig, entweder

1. in komplexbildenden Grundelektrolyten (Citrat, Tartrat, Oxalat usw.) bei alkalischen pH-Werten zu arbeiten, oder

2. durch eine Reduktion des Fe(III) zu Fe(II) den störenden Einfluß der Fe(III)/Fe(II) -Stufe zu unterdrücken. Die Reduktionsstufe Fe(II)/Fe(0) hat ein Halbstufenpotential, das größer ist als $-1,0 \text{ V}$, und stört daher in keiner Weise die Bleibestimmung.

Nach *J. Teisinger*⁴⁹ werden zur polarographischen Bestimmung von Blei neben Fe(III) saure Citratlösungen als Grundelektrolyte verwendet, während *E. Forche*⁵⁰ eine Methode mit Verwendung alkalischer Leitelektrolyte angibt. Bei der nach *Forche* verwendeten stark alkalischen Tartratlösung liegt die Fe(III)/(II) -Stufe negativer als die Bleistufe, so daß Störungen der beschriebenen Art wegfallen.

Trotz dieser sorgfältig ausgearbeiteten Bestimmungsmethode erschien es uns jedoch bald wünschenswert, eine etwas rascher arbeitende Methode zu haben, um die langwierigen Extraktionszeiten mit Tartratlösungen womöglich zu vermeiden, die schlecht zu reinigenden und schlecht aufzubewahrenden starken NaOH -Lösungen entbehrlich zu machen und um vor allem zu günstigeren Endlösungen zu gelangen, als es alkalische Elektrolyte sind, in denen schlecht zu vermessende, gedehnte Stufen (großer Raumbedarf) entstehen. Zu diesem Zweck sollte der störende Einfluß des Fe(III) durch eine Reduktion zu Fe(II) ausgeschaltet werden. Außerdem leitete uns auch die Absicht, in sauren Grundelektrolyten mit ihren schon beschriebenen Vorteilen arbeiten zu können. Als Reduktionsmitteln wurde Hydroxylamin-Chlorhydrat erprobt.

Die Bestimmung von Pb neben Fe(III) nach vorangehender Reduktion des Fe(III) zu Fe(II) mit $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$.

R. Strubi beschreibt⁵¹ die Verwendung von Hydroxylamin zur Reduktion der störenden Fe(III) -Ionen bei der Analyse von Uranerzen und eisenhaltigen Zinkblenden. *G. Thannheiser* und *G. Maassen* berichten⁵², daß sie bei der Analyse von Stählen weder mit Hydroxylamin (nach der *Strubi*'schen Methode) noch mit anderen Reduktionsmitteln Erfolge erzielen konnten. Trotz dieser widersprechenden Angaben wurde der Versuch unternommen, diese bei der Erzanalyse mit wechselndem Erfolg verwendete Methode in die Mikroanalyse zu übertragen, um sie für die polarographische Bleibestimmung verwenden zu können.

Eisen(III)-Lösungen mit Zusätzen von Blei:

In 500 ml doppelt dest. 20%iger HCl wurden 940 mg reinsten Eisendrahtes gelöst. 10 ml dieser Lösung wurden eingedampft und der Rückstand mit 0,1-n HCl , die verschiedene Bleimengen enthielt, aufgenommen. 10 ml dieser Lösung wurden zuerst direkt und dann im reduzierten Zustand polarographiert. Zur Reduktion wurden 10 ml der salzsauren, bleihaltigen Eisenlösung am Wasserbad zur Trockene verdampft, der Rückstand in 20%iger $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ -Lösung, die 0,1-n an HCl war, gelöst, in einen 10-ml-Meßkolben übergeführt und 10 Minuten auf dem lebhaft siedenden Wasserbad erhitzt. Nach dem Erkalten wurde mit der Reduktionslösung bis zur Marke aufgefüllt.

In Abb. 5 wird die Wirkungsweise der Reduktionsmethode an Hand von Polarogrammen, die die Erniedrigung bzw. den Ausfall der Fe(III)-Stufe zeigen, dargestellt. Verwendet wurden Eisen(III)-Lösungen, die 20 μg Blei enthielten.

Da das Redoxpotential Fe(III)/Fe(II) bei Abwesenheit von Komplexbildnern bei + 0,47 V (also im Bereich der anodischen Auflösung des Quecksilbers) liegt, erhält man keinen Grundstromwert mehr und die Kurve steigt zu Beginn des Polarogramms sofort an.

Reduktionswirkung von verschiedenprozentigen Hydroxylamin-Chlorhydratlösungen.

In Abb. 6 werden die Meßergebnisse von Lösungen gezeigt, die 94 mg Fe(III) enthielten und mit $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ verschiedener Konzentration reduziert wurden. Die gewählte Eisenmenge entspricht ungefähr dem fünffachen Eisengehalt von 10 ml Blut, die üblicherweise zur Bleibestimmung verwendet werden.

Autoxydation von reduzierten Eisenlösungen an der Luft.

Eine wichtige Frage bei Anwendung der Reduktionsmethoden ist die nach der Beständigkeit der reduzierten Lösungen. Zu deren Beurteilung wurden folgende Versuche unternommen:

10 ml einer reduzierten, 94 mg Fe enthaltende Lösung wurden in verschiedenen Zeitabständen in Stickstoffatmosphäre polarographiert. Diese in der Polarographie übliche Methode, die vorher entlüftete Lösung durch eine N_2 -Atmosphäre vor einer Wiederaufnahme von O_2 zu schützen, dient in diesem Falle gleichzeitig dem Zweck, eine Oxydation des Fe(II) durch den Luftsauerstoff soweit als möglich hintanzuhalten.

Die Abb. 7 zeigt die Ergebnisse dieser Versuche, die einmal im offenen Gefäß (Abb. 7a) und einmal im geschlossenen (Abb. 7b) durchgeführt wurden. Obwohl die Ergebnisse — wie nicht anders zu erwarten — in den geschlossenen Gefäßen besser waren, sieht man, daß ohne weiteres auch offene Gefäße geeignet sind, da die erste Eisenstufe erst nach ca. 1 Stunde wieder auftritt.

Die Reduktion des dreiwertigen Eisens in Mengen bis zu ca. 100 mg läßt sich mit 20%iger $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ -Lösung, durch 10 Minuten langes Erhitzen auf dem lebhaft siedenden Wasserbad, zufriedenstellend durchführen. Im Anschluß daran kann Blei ohne Störung durch dreiwertiges Eisen polarographisch bestimmt werden.

Die quantitative Auswertung der Polarogramme.

Bei Eichaufnahmen müssen gleiche Tropfzeiten der Kapillare, gleiche Niveauhöhe des Quecksilbers, gleiche Elektrolytzusammensetzung und gleiche Temperatur eingehalten werden.

Abb. 8 zeigt eine mit reinen Bleilösungen ermittelte Eichgerade; die Tabelle gibt die dazugehörigen Werte mit den einzelnen Genauigkeitsgrenzen an. Das Meßvolumen war 2 ml, der Elektrolyt 0,1-n HCl + 0,01% Gelatine; berechnet wurde die Gerade auf eine Empfindlichkeit von 1/10. Der Maßstab der Koordinaten wurde so gewählt, daß er der erreichbaren Meßgenauigkeit entsprach. Die Mittelwerte wurden aus fünf Einzelwerten errechnet. Um sich ein Bild über die unter ungünstigsten Bedingungen erhaltenen größten Abweichungen (Maximalfehler) zu machen, wurden in der Tabelle zu Abb. 8 die Abweichungen der Einzelwerte vom Mittelwert in größte und mittlere unterteilt.

Die Grenze der Leistungsfähigkeit der polarographischen Methode ist mit den in Abb. 8 gegebenen Werten keinesfalls schon erreicht. Bei höchster Galvanometerempfindlichkeit würden z. B. die Abszissenwerte um eine Zehnerpotenz verkleinert. Die Gerade gilt dann für Werte zwischen 0,5 und 8 μg . Die Abweichungen bleiben gleich. Eine Verminderung des Meßvolumens von 2 auf 0,2 ml steigert die Genauigkeit um eine weitere Zehnerpotenz. Damit ist die größenordnungsmäßige Bestimmung von 0,05 μg Blei möglich. Es sei jedoch vor übertriebenen Genauigkeitsansprüchen in diesem Konzentrationsbereich gewarnt. Wenn es auch möglich ist, sogar in einem Volumen von 0,005 ml zu polarographieren²³, darf man sich doch über die so erreichbare Genauigkeit keine Illusionen machen: die Anforderungen an die Konstanz der Kapillarencharakteristik allein dürften z. B. dann kaum mehr zu verwirklichen sein. Daher dürfte auch die Angabe einer Meßgrenze von 0,0001 μg Blei durch J. Heyrovský²⁶ mehr als ein theoretischer Grenzfall aufzufassen

sein. Das Arbeiten mit kleinem Volumen, das genaue Einregulieren der Kompensationsströme, die minutiöse Anforderungen an die Gleichmäßigkeit von Tropfzeit und Tropfengröße der Kapillare und die genaueste Messung der Restströme erfordern bereits einen bedeutend größeren Aufwand bei Analysen im Konzentrationsbereich von 0,1 bis 1 μg als in höheren Konzentrationsbereichen. Als praktische Meßgrenze dürfte daher ein Wert von 0,05 μg Blei anzugeben sein. Für Serienbestimmungen, die einfach und rasch durchzuführen sind, genügen fast immer Grenzwerte von 1 μg .

Bestimmung des Bleigehaltes durch Eichzusätze.

Durch Zusätze bekannter Mengen eines Depolarisators ist es möglich, auch ohne Eichgerade den Bleigehalt zu bestimmen. Bezüglich der Wahl eines Depolarisators bestehen verschiedene Möglichkeiten.

Die auf Blei zu untersuchende Lösung wird polarographiert, hernach die Konzentration durch Zusatz einer bekannten Bleimenge erhöht und nochmals polarographiert. Aus der Differenz der beiden Stufenhöhen kann die unbekannte Bleikonzentration errechnet werden. Der praktische Vorteil dieser Methode liegt darin, daß damit die Versuchsbedingungen bei der Analysen- und Vergleichsprobe gleichzuhalten sind. Der Eichzusatz wird auf Grund des ersten Polarogrammes so bemessen, daß die Stufenhöhe ungefähr verdoppelt wird. Die Genauigkeit einer Reihe von Eichaufnahmen in der früher beschriebenen Art wird allerdings nicht erreicht und der Zeitaufwand für eine Analyse wird durch Unterbrechen des Polarogrammes, Pipettieren, neuerliches Entlüften und Polarographieren annähernd verdoppelt.

An Stelle eines Eichzusatzes gleichartiger Ionen in bekannter Konzentration kann der Untersuchungslösung auch ein anderer Depolarisator mit benachbart liegendem Halbstufenpotential zugesetzt werden. Diese Methode, die den Leitelement-Zusätzen in der Spektralanalyse ähnelt, wurde von E. Forche⁵⁴ in die Polarographie eingeführt.

Durch deren Anwendung werden die Eichgeraden von eventuellen Unterschieden in der Zusammensetzung der Untersuchungslösung unabhängig.

Außer den angegebenen Arbeiten E. Forches findet man nur in der amerikanischen Literatur⁵⁵ eine Erwähnung des Stufenquotienten zur Bestimmung von Blei in biologischem Material, leider aber mit zu wenig detaillierten Angaben. Daher werden Eichgerade unter Verwendung des Stufenquotienten für die Bestimmung des Bleis in kleinen Konzentrationen gezeigt.

Die Gerade (Abb. 9, Meßpunkte $\circ$) für Bleiwerte von 8 bis 50 μg wurde unter folgenden Bedingungen erhalten:

Meßvolumen: 2 ml.

Elektrolyt: 0,1-n HCl + 0,01% Gelatine.

Konst. Cd-Zusatz: 10 μg .

Max. Galv.-Empfindlichkeit: 1/10.

Bei Vergrößerung der Galvanometer-Empfindlichkeit von 1/10 auf 1/1 und gleichzeitiger Verkleinerung des konstanten Cadmiumzusatzes von 10 auf 1 μg , erhält man dieselbe Gerade für Bleiwerte zwischen 0,5 und 5 μg (Abb. 9, Meßpunkte $\bullet$).

Zusammenfassung.

Es werden die Angaben für eine exakte Bestimmung von Mikrogramm-mengen Blei mittels Dithizon und die Reproduzierbarkeit der kolorimetrischen Einfarbenmethode überprüft. Die verschiedenen pH -Abhängigkeiten, die im Laufe der Dithizonmethode von Bedeutung sind, werden experimentell festgelegt. Weiters wird die Bestimmung von Mikrogramm-mengen Blei auf polarographischem Wege diskutiert und insbesondere eine einfache Methode zur Bestimmung von Blei neben Eisen(III) angegeben.

Summary.

A check was made of the statements regarding the accurate determination of microgram quantities of lead by means of dithizone and also of the reproducibility of the colorimetric one-color method. The various pH relationships, which are of significance during the course of the dithizone procedure, were established experimentally. In addition, the determination of microgram quantities of lead polarographically was discussed and in particular a simple method was given for the determination of lead in the presence of iron(III).

Literatur.

- ¹ E. Fischer, Ann. Chem. **190**, 181 (1877/78).
- ² H. Fischer, Wiss. Veröff. Siemens-Werke **4**, 167 (1926). **6**, 147 (1928); **10**, 99 (1931);
- ³ H. Fischer, Z. angew. Chem. **42**, 1025 (1929).
- ⁴ H. Fischer, Z. angew. Chem. **47**, 685 (1934).
- ⁵ H. Fischer und G. Leopoldi, Z. angew. Chem. **47**, 90 (1934); Wiss. Veröff. Siemens-Werke **12**, 44 (1933).
- ⁶ P. L. Hibbard, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **10**, 179 (1938).
- ⁷ H. Fischer und G. Leopoldi, Z. analyt. Chem. **119**, 161 (1946).
- ⁸ H. Fischer, M. Passer und G. Leopoldi, Mikrochem. **30**, 324 (1940).
- ⁹ H. Taeger, Ergebnisse d. inn. Med. **54**, 459 (1938).
- ¹⁰ B. Behrens und H. Taeger, Z. ges. exp. Medizin **96**, 582 (1935).
- ¹¹ S. L. Tompsett und A. B. Anderson, Biochemic. J. **29**, 1851 (1935).
- ¹² E. S. Wilkins, G. J. Willoughby, E. O. Kramer und F. L. Smyth, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **7**, 33, 285 (1935).
- ¹³ F. L. Kozelka und E. F. Kluchesky, ind. Eng. Chem. Analyt. Ed. **13**, 492 (1941).
- ¹⁴ P. A. Clifford, J. Assoc. Off. Agric. Chemists **26**, 26 (1943).
- ¹⁵ K. Bambach und R. E. Burkey, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **14**, 904, 275 (1942).
- ¹⁶ J. Schultz und M. A. Goldberg, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **15**, 155 (1943).
- ¹⁷ D. M. Hubbard, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **9**, 493 (1937).
- ¹⁸ L. F. Bielefeld und T. M. Patrik, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **14**, 275 (1942).
- ¹⁹ J. Cholak und D. M. Hubbard, Analyt. Chemistry **20**, 671 (1948).
- ²⁰ H. Fischer und G. Leopoldi, Metall u. Erz **35**, 86 (1938).
- ²¹ H. Fischer und G. Leopoldi, Z. analyt. Chem. **107**, 241 (1936).
- ²² H. Fischer, Angew. Chem. **50**, 919 (1937).
- ²³ H. Fischer und G. Leopoldi, Chem.-Ztg. **49/50**, 231 (1940).
- ²⁴ H. Müller, Z. analyt. Chem. **113**, 161 (1938).
- ²⁵ O. B. Winter, H. M. Robinson, F. W. Lamb und E. J. Müller, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **7**, 265 (1935).
- ²⁶ J. Heyrovský, Polarographie. Wien: J. Springer. 1941.
- ²⁷ M. v. Stackelberg, Polarographische Arbeitsmethoden. Berlin: de Gruyter. 1950.
- ²⁸ I. M. Kolthoff und J. J. Lingane, Polarography. New York: 1941.
- ²⁹ H. Hohn, Chemische Analysen mit dem Polarograph. Berlin: J. Springer. 1937.
- ³⁰ I. M. Kolthoff, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **14**, 195 (1942).
- ³¹ J. J. Lingane, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **16**, 329 (1944).
- ³² J. K. Taylor, Analyt. Chemistry **22**, 495 (1950).
- ³³ F. L. English, Analyt. Chemistry **20**, 889 (1948).
- ³⁴ D. Ilković und G. Semerano, Coll. trav. chim. Tschécoslovaquie **4**, 176 (1932).
- ³⁵ J. J. Lingane und H. Kertinger, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **12**, 750 (1940).
- ³⁶ V. Majer, Coll. trav. chim. Tschécoslovaquie **9**, 360 (1937).
- ³⁷ E. Weinig, Dtsch. Z. ges. gerichtl. Medizin **38**, 199 (1944).
- ³⁸ G. Massen, Angew. Chem. **50**, 375 (1937).
- ³⁹ J. Heyrovský und M. Kalousek, Coll. trav. chim. Tschécoslovaquie **11**, 464 (1939).
- ⁴⁰ A. Langer, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **17**, 454 (1945).
- ⁴¹ H. K. Beecher, R. Follansbee, A. J. Murphy und F. N. Craig, J. Biol. Chem. **146**, 197 (1942).
- ⁴² J. J. Lingane, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **16**, 329 (1944).
- ⁴³ J. J. Lingane, J. Amer. Chem. Soc. **67**, 1916 (1945).
- ⁴⁴ K. Bambach und J. Cholak, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **13**, 504, 583 (1941).
- ⁴⁵ K. Bambach, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **11**, 400 (1939).
- ⁴⁶ J. J. Lingane, J. Amer. Chem. Soc. **68**, 2448 (1946).
- ⁴⁷ A. Richter, Angew. Chem. **52**, 679 (1939).
- ⁴⁸ E. T. Verdies, Coll. trav. chim. Tschécoslovaquie **11**, 233 (1939).
- ⁴⁹ J. Teisinger, Z. ges. exp. Medizin **98**, 520 (1936).
- ⁵⁰ E. Forche, Dissertation. Leipzig: 1938.
- ⁵¹ R. Strubl, Coll. trav. chim. Tschécoslovaquie **10**, 466 (1938).
- ⁵² G. Thannheiser und G. Massen, Arch. Eisenhüttenwes. **10**, 441 (1937).
- ⁵³ V. Majer, Mikrochem. **18**, 74 (1935).
- ⁵⁴ E. Forche, Mikrochem. **25**, 217 (1938).
- ⁵⁵ J. Cholak und K. Bambach, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **13**, 58 (1941).

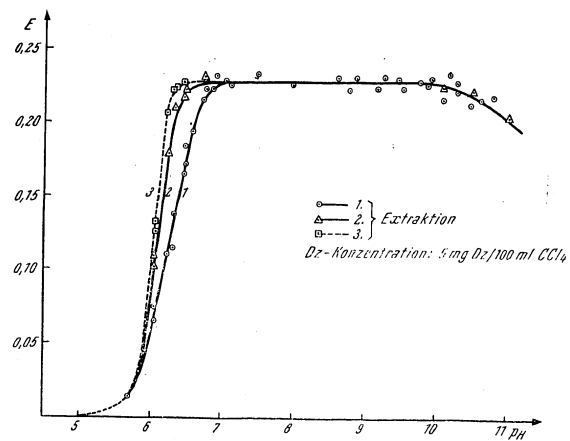


Abb. 1. Abhängigkeit der Extinktionswerte E vom pH der Extraktionslösung

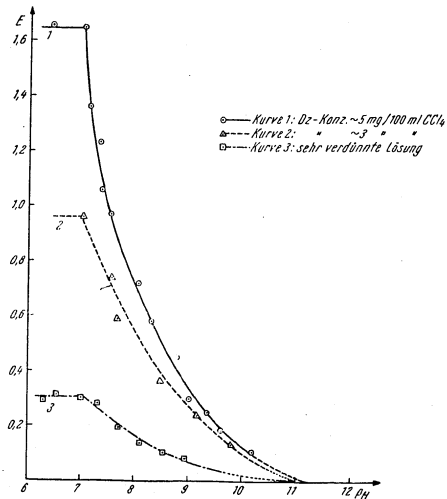


Abb. 2. Abnahme an freiem Dz durch Ausschütteln bei verschiedenem pH.

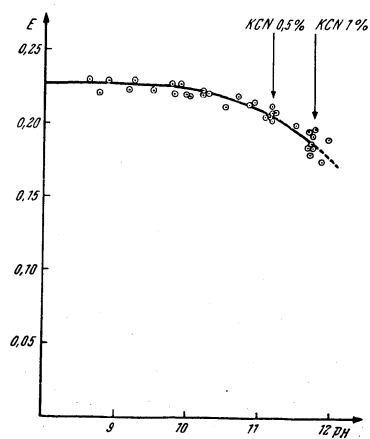


Abb. 3. „Zersetzungskurve“ des Pb-Dithizonats durch Waschen mit KCN-Lösungen.

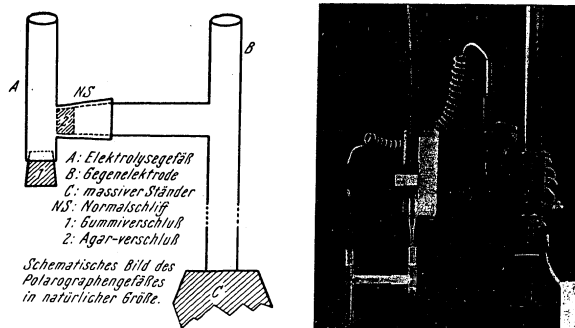


Abb. 4. Die Gaseinleitungskapillare, die durch den mit Quecksilber gedichteten Gummiverschluß 1 führt, wurde der größeren Deutlichkeit wegen weggelassen.

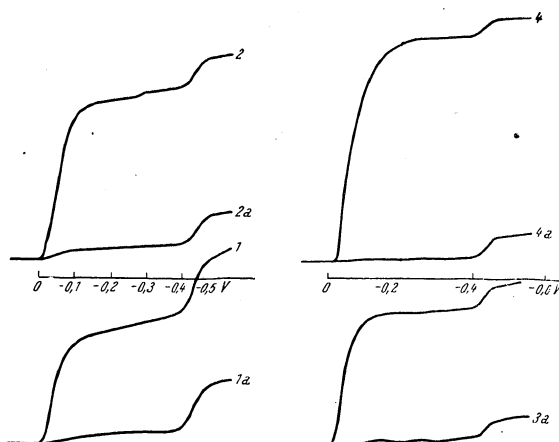


Abb. 5. Polarogramme von nicht reduzierten (1—4) und reduzierten (1a—4a) Eisen (III)-Lösungen verschiedener Konzentration, die 20 µg Blei enthalten.

Kurve	mg % Fe ³⁺	γ _{Pb}	Reduziert	Galv.-Empfindlichkeit
1	18,8	20	nein	E ₁₀₀
1a			ja	
2	37,6	20	nein	E ₁₀₀
2a			ja	
3	56,4	20	nein	E ₁₀₀
3a			ja	
4	94,0	20	nein	E ₁₀₀
4a			ja	

Reduktionsmittel: NH₄OHCl,
20%.
Säurekonzentration: 0,1-n HCl.
Erhitzt: 10 Minuten.
Getrennte Elektroden.
Markierung der Galv.-Nulllinie.

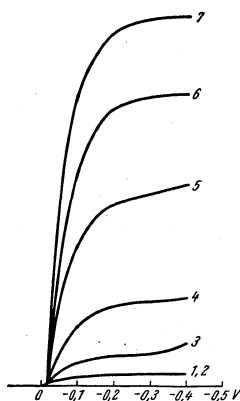


Abb. 6. Reduktionswirkung von $\text{NH}_4\text{OH-HCl}$ -Lösungen verschiedener Konzentration auf eine Konstante Eisenmenge von 94 mg Fe (III).

Kurve	Reduktionsmittel	Galv.-Empfindlichkeit
1	20% $\text{NH}_4\text{OH} \cdot \text{HCl}$	E_{100}
2	15% "	E_{100}
3	12% "	E_{100}
4	10% "	E_{100}
5	8% "	E_{100}
6	5% "	E_{100}
7	nicht reduziert	E_{100}

Säurekonzentration: 0,1-n HCl.
Erhitzt: 10 Minuten.
Konstanter Eisenwert: 94 mg Fe^{3+} .
Getrennte Elektroden.
Markierung der Galv.-Nulllinie.

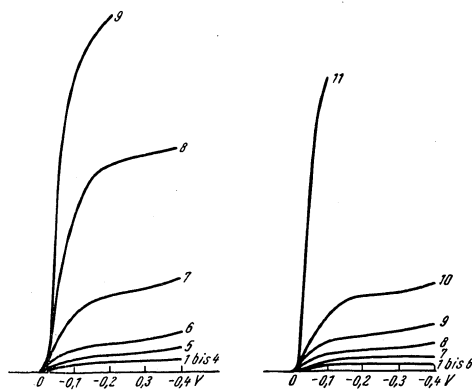


Abb. 7. Autoxydation von reduzierten Eisenlösungen an der Luft.

Kurve	Polarographiert nach
1	sofort
2	10 Minuten
3	20 "
4	30 "
5	60 "
6	2 Stunden
7	3 "
8	5 "
9	10 "

Polarographiert im offenen Gefäß unter Stickstoffatmosphäre.
Säurekonzentration: 0,1-n HCl.
Konstanter Eisenwert: 94 mg Fe^{3+} .
Empfindlichkeit: E_{100} .
Getrennte Elektroden.
Markierung der Galv.-Nulllinie.

Kurve	Polarographiert nach
1	sofort
2	10 Minuten
3	20 "
4	30 "
5	60 "
6	2 Stunden
7	4 "
8	6 "
9	10 "
10	20 "
11	30 "

Polarographiert im geschlossenen Gefäß unter Stickstoffatmosphäre.
Säurekonzentration: 0,1-n HCl.
Konstanter Eisenwert: 94 mg Fe^{3+} .
Empfindlichkeit: E_{100} .
Getrennte Elektroden.
Markierung der Galv.-Nulllinie.

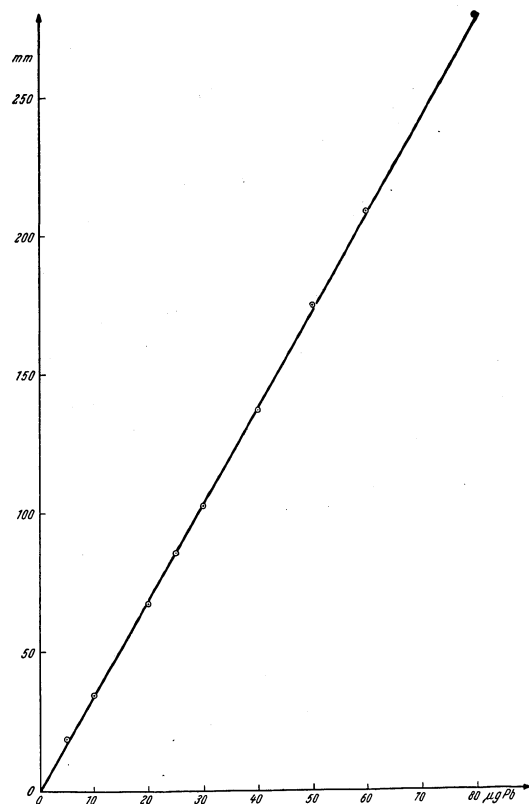


Abb. 8.

Pb µg	Stufenhöhe in mm		Emp- find- lichkeit E	Abweichung der Einzelwerte vom Mittelwert						Stufen- höhe berech- net für E/10	
	Einzelwert	Mittel- wert		Größte			Mittlere				
				mm	µgPb	%	mm	µgPb	%		
5	20,0 16,3 17,5	20,3 19,0	18,0	1/10	2,3	0,62	12,4	1,4	0,37	7,4	18,0
10	36,0 35,0 33,8	33,7 33,4	34,4	1/10	1,6	0,47	4,7	0,9	0,25	2,5	34,4
20	66,7 63,2 70,0	66,0 67,3 68,5	67,8	1/10	2,2	0,65	3,3	1,1	0,33	1,7	67,8
25	84,6 83,8 87,0	87,3 85,7	85,7	1/10	1,9	0,55	1,8	1,2	0,34	1,5	85,7
30	53,3 51,3 51,5	50,0 51,2 51,5	51,3	1/20	2,0	0,58	1,9	0,6	0,19	0,6	102,7
40	69,3 67,2 70,5	68,0 67,2	68,5	1/20	2,0	0,58	1,5	1,1	0,33	0,8	137,0
50	87,7 88,0 89,7	86,5 85,6	87,4	1/20	2,4	0,68	1,4	1,3	0,37	0,7	174,8
60	71,4 71,0 68,7	68,8 67,6	69,5	1/20	1,9	0,54	0,9	1,4	0,39	0,7	208,5
80	55,7 56,3 54,0	57,0	55,8	1/20	1,8	0,50	0,6	0,9	0,26	0,3	278,8

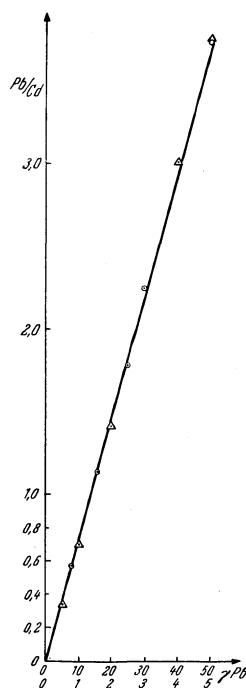


Abb. 9. Stufenquotient-Eichgerade für Bleimengen zwischen 10 und 50, bzw. 0,5 bis 5,0 µg.

Meßpunkte: ○

µgPb	E	Pb	Cd	Pb:Cd		Mittlerer Fehler	
				Einzelwert	Mittelwert	γ	%
8	1/10	28,0	49,0	0,57 ₄	0,57	0,16	1,8
		27,0	46,9	0,57 ₄			
		25,4	46,1	0,55 ₁			
16	1/10	54,7	47,8	1,14	1,14	0,21	1,3
		54,0	48,2	1,12			
		58,0	49,9	1,16			
25	1/10	75,8	44,0	1,72	1,78	0,54	2,2
		79,0	44,0	1,80			
		70,3	43,8	1,81			
30	1/10	49,3	21,9	2,25	2,25	0,44	1,5
		46,0	20,0	2,30			
		46,5	21,1	2,20			
50	1/10	74,2	20,0	3,72	3,73	0,40	0,8
		81,0	21,5	3,77			
		83,8	22,7	3,69			

Meßpunkte: △

µgPb	E	Pb	Cd	Pb:Cd		Mittlerer Fehler	
				Einzelwert	Mittelwert	γ	%
0,5	1/1	16,0	45,0	0,35 ₄	0,34	0,03	5,0
		14,5	42,3	0,34 ₄			
		13,4	43,0	0,31 ₄			
1,0	1/1	31,4	45,3	0,67 ₂	0,70	0,02	2,4
		31,5	43,8	0,72 ₆			
		34,2	48,0	0,71 ₄			
2,0	1/1	62,4	44,6	1,40	1,42	0,03	1,7
		60,8	43,4	1,40			
		63,0	43,9	1,45			
4,0	1/2	67,6	22,4	3,02	3,01	0,04	1,0
		65,4	21,5	3,04			
		60,2	20,4	2,96			
5,0	1/2	78,8	21,2	3,72	3,74	0,04	0,9
		72,8	19,2	3,79			
		81,2	21,9	3,71			

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/56.

Zeilenanzahl: 570.

Aus dem Max-Planck-Institut für Chemie, Mainz.

Anwendung der Massenspektroskopie in der analytischen Chemie.

Von

H. Hintenberger.

Mit 14 Abbildungen.

(Eingelangt am 28. April 1955.)

Einleitung.

Bei einer massenspektroskopischen Untersuchung müssen von der Versuchssubstanz zunächst Ionen erzeugt werden, die dann mit Hilfe einer hohen elektrischen Gleichspannung im Vakuum beschleunigt werden. Der dabei entstehende Ionenstrahl wird durch elektrische und magnetische Ablenkfelder geschossen und beschreibt dort je nach der Masse der Ionen verschiedene Bahnen. Der Strahl wird also nach Ionen verschiedener Masse zerlegt, die dann mit Hilfe einer Photoplatte oder eines empfindlichen elektrischen Nachweisgerätes nachgewiesen werden können. Obwohl dieses Untersuchungsverfahren von den Physikern zunächst nur dazu entwickelt worden ist, die Isotopenzusammensetzung der chemischen Elemente zu untersuchen und dabei sowohl die Isotopenhäufigkeiten als auch die genauen Kernmassen zu bestimmen, hat es sich doch im Laufe der Zeit zu einem wertvollen Hilfsmittel bei chemischen Analysen entwickelt. Es soll das Ziel dieses Vortrags sein, einen Überblick über die in der Massenspektroskopie verwendeten Apparate und Untersuchungsmethoden zu geben und an Hand von charakteristischen Beispielen zu zeigen, welche analytischen Probleme vorteilhaft auf massenspektroskopischem Wege gelöst werden können.

Ionenerzeugung.

Am einfachsten ist es, wenn die Versuchssubstanz im gasförmigen Zustand vorliegt. Sie wird dann aus einem Vorratsgefäß durch einen hohen Strömungswiderstand in die Ionenquelle eingelassen und dort durch Elektronenstoß ionisiert. Eine solche Elektronenstoß-Ionenquelle ist in Abb. 1 dargestellt. Die Ionenquelle selbst besteht im wesentlichen aus einem fast geschlossenen Blechkästchen, das von einem Elektronenstrahl durchlaufen wird. Die Elektronen werden von einer Glühkathode erzeugt und durch eine Gleichspannung von etwa 100 Volt zum Blechkästchen hin beschleunigt. Durch den Schlitz S_1 wird ein feiner Elektronenstrahl ausgeblendet, der das Blechkästchen durchläuft und dabei durch Zusammenstöße mit den Gasatomen positive Ionen bildet. Durch eine Elektrode P , die dem Kästchen gegenüber schwach positiv aufgeladen ist, werden die Ionen durch die Öffnung S_2 aus dem Stoßraum herausgeführt und dann durch eine elektrische Beschleunigungsspannung von einigen tausend Volt gegen den Eintrittsschlitz S_3 des Massenspektrographen beschleunigt. Hier wird ein feiner Ionenstrahl ausgeblendet, der im Massenspektrographen analysiert werden kann. Die Ionen haben ziemlich genau alle die gleiche kinetische Energie. Das ist für die massenspektroskopische Untersuchung, wie wir noch sehen werden, ein großer Vorteil.

Liegt die zu untersuchende Substanz als fester Körper vor, so kann man anstatt der Gaszuleitung ein Öfchen einbauen, das im Vakuum geheizt wird, und die Versuchssubstanz in den Stoßraum hineindampfen.

Bei festen Stoffen, insbesondere bei Metallen, kann man die Ionen auch mit Hilfe eines Hochfrequenzfunktens erzeugen. Man macht dazu

aus dem zu untersuchenden Material zwei Stifte, zwischen denen durch eine hochfrequente Wechselspannung im Vakuum ein Funken erzeugt wird.

Man kann auch von Salzen und anderen nichtleitenden Substanzen auf diese Weise Ionen erhalten. Die Stoffe werden dann pulverisiert und in ein dünnes Metallröhrchen gefüllt, das als Elektrode für den Funken verwendet wird.

Ein sehr einfaches Verfahren, Ionen zu erzeugen, wird bei den thermischen Ionenquellen ausgenutzt. Dabei wird von der Tatsache Gebrauch gemacht, daß Atome an heißen Metalloberflächen ionisiert werden. Im einfachsten Fall besteht eine solche Ionenquelle aus einem dünnen Wolframbändchen, das durch einen elektrischen Strom direkt geheizt wird und auf dessen Mitte eine Spur von der Versuchssubstanz aufgetragen wird. Vom erhitzten Bändchen dampfen im Vakuum an der von der Probe bedeckten Stelle Ionen ab, die dann massenspektroskopisch untersucht werden können. Der Vorteil dieser thermischen Ionenquellen ist, daß die Ionen sehr homogene Energie besitzen und daß man mit außerordentlich kleinen Proben schon intensive Ionenstrahlen erhalten kann. Der Nachteil ist, daß sie nur für Stoffe mit kleiner Ionisierungsarbeit hohe Ausbeuten liefern.

Jedes der besprochenen Verfahren zur Ionenerzeugung hat seine besonderen Vor- und Nachteile; eine universelle Methode, die für alle Substanzen mit gleicher Wirksamkeit angewendet werden könnte, gibt es nicht. Man muß ein Instrument je nach dem Problem, das damit bearbeitet werden soll, mit der dafür geeigneten Ionenquelle versehen und am besten dafür sorgen, daß verschiedene Arten von Ionenquellen ausgewechselt werden können.

Das Ablensystem.

Das zweite Bauelement, das für einen Massenspektrographen benötigt wird, ist das Ablensystem, in dem der Ionenstrahl nach verschiedenen Massen zerlegt wird. Wenn die Ionen alle gleiche Energie besitzen, kann man am einfachsten dazu ein homogenes magnetisches Sektorfeld verwenden. In ihm erleidet der Ionenstrahl eine Aufspaltung nach verschiedenen Massen (Abb. 2). Außerdem werden die Ionen, wenn sie in etwas verschiedenen Richtungen durch den Eintrittsschlitz S eintreten, nach dem Feld wieder zu einem feinen Bündel gesammelt. Auf diese Weise entsteht durch die Ionen der Masse m_0 in Punkt P_0 nach dem Magnetfeld ein Bild des Eintrittsspalt S . Haben die Ionen eine andere Masse m_1 , so liegt das Bild in einem anderen Punkt P_1 . Auf einer Photoplatte, die nach dem Feld angebracht wird, erhält man dann ein Massenspektrum. Aus der Lage der Linien kann man auf die Masse der Ionen schließen, die Schwärzung der Photoplatte gibt die Häufigkeit wieder, mit der die Ionen im Strahl vorhanden waren. Man spricht dann von einem richtungsfokussierenden Massenspektrographen, weil hier Ionen, die durch verschiedene Richtungen durch den Eintrittsspalt kommen, zu einem scharfen Bild fokussiert werden. Vorausgesetzt ist dabei, daß alle Ionen die gleiche Energie besitzen, sonst werden die Linien verwaschen.

Wenn man die Ionen mit Elektronenstoß oder in einer thermischen Ionenquelle erzeugt, dann haben sie genügend homogene Energie, um in einem richtungsfokussierenden Apparat scharfe Bilder zu geben. Benutzt man aber einen Hochfrequenzfunken, dann haben die entstehenden Ionen eine beträchtliche Streuung in ihrer Energie und die Linien werden unscharf. Es sind dann eigene Maßnahmen notwendig, um diese Unschärfe zu beseitigen. Am einfachsten kann man das erreichen, indem man den Ionenstrahl, bevor er ins Magnetfeld kommt, durch ein elektrisches Radialfeld laufen läßt (Abb. 3). Ionen gleicher Energie beschreiben darin gleiche Bahnen, auch wenn sie verschiedene Masse haben. Die Ionen mit kleiner Energie werden aber stärker abgelenkt als solche mit großer Energie. Nach dem elektrischen Feld entsteht daher vom Ionenstrahl ein Energiespektrum in der Bildebene BB' und wenn hier ein Schirm mit einem engen Schlitz S_2 angebracht wird, so können nur Teilchen durch diesen Schlitz kommen, die alle ziemlich genau die gleiche

Energie besitzen. Wenn nun der Ionenstrahl nach einem solchen Radialfeld als Energiefilter noch in einem Magnetfeld nach Massen zerlegt wird (Abb. 4), so hat man einen Massenspektrographen, bei dem die Verwaschung der Linien, die durch die ungleichen Energien der Ionen entstehen würden, beseitigt ist. Je enger die Blende S_2 gewählt wird, desto homogener wird die Energie der durch sie ausgefilterten Ionen und desto schärfer werden die Linien. Durch die Verengung der Blende S_2 wird aber auch die Intensität des Ionenstrahls herabgedrückt und dadurch die Nachweisempfindlichkeit des Massenspektrographen herabgesetzt. Das ist ein empfindlicher Nachteil. Es war daher ein wesentlicher Fortschritt, daß es durch einen Kunstgriff gelang, auch Ionenstrahlen verschiedener Energie zu einem scharfen Bild zu vereinigen. In Abb. 5 ist der Strahlengang in einem solchen verbesserten Apparat zu sehen. Hier ist durch besondere Dimensionierung des elektrischen und magnetischen Ablenkfeldes erreicht worden, daß nicht nur Strahlen, die in verschiedenen Richtungen durch den Eintrittsschlitz kommen, auf der Photoplatte zu einer scharfen Linie vereinigt werden, sondern auch Ionen, die verschiedene Energien besitzen. Man nennt solche Apparate, bei denen sowohl eine Abweichung in der Richtung als auch in der Energie von einem vorgegebenen Sollwert auf die Linienschärfe keinen Einfluß hat, doppeltfokussierende Apparate. Das Prinzip der Doppelfokussierung ist vor etwa 20 Jahren im Physikalischen Institut der Universität in Wien von *Mattauch* und *Herzog*² und etwa gleichzeitig auch in Amerika von *Dempster*^{1,2} und von *Bainbridge* und *Jordan*⁴ entwickelt worden und hat sich in der Massenspektroskopie außerordentlich bewährt. Abb. 5 zeigt den Strahlengang in einem *Mattauch-Herzog*-schen doppeltfokussierenden Massenspektrographen, der gegenüber allen anderen doppeltfokussierenden Apparaten den Vorzug besitzt, daß Doppelfokussierung gleichzeitig für alle Massen erfolgt und außerdem die Bilder für die verschiedenen Massen auf einer Geraden liegen. Die doppeltfokussierenden Apparate lassen hohes Auflösungsvermögen mit hoher Intensität erreichen, und man kann bei ihnen Ionenquellen verwenden, die Ionen verschiedener Energien liefern.

Ionennachweis.

Wenn der Ionennachweis mit Hilfe einer Photoplatte erfolgt, so spricht man von Massenspektrographen, wenn der Nachweis elektrometrisch erfolgt von Massenspektrometern. Für den photographischen Nachweis eignen sich gelatinearme Platten, die von *Aston* zusammen mit der Firma Ilford für diesen Zweck entwickelt wurden und als Q-Platten im Handel erhältlich sind. Beim elektrometrischen Nachweis fängt man das Massenspektrum auf einem Metallschirm auf, in dem sich ein dünner Schlitz befindet, hinter dem ein Auffänger steht. Der Auffänger ist mit dem Gitter der Eingangsröhre eines Gleichstromverstärkers in Verbindung. Wenn Ionen durch den Schlitz auf den Auffänger treffen, so zeigt ein mit dem Verstärker verbundenes Meßinstrument einen Ausschlag. Ändert man das Magnetfeld, so wandert das Massenspektrum über den Endschlitz hinweg und bei jeder Masse, die durch den Schlitz hindurchtritt, zeigt das Instrument einen Ausschlag, der der Häufigkeit, mit der diese Masse im Ionenstrahl vorkommt, proportional ist. Die Abb. 6a zeigt ein solches elektrometrisch aufgenommenes Massenspektrum von Cadmium, Abb. 6b ein photographisch aufgenommenes Cadmiumspektrum. Elektrometrisch kann man noch Ströme in der Größenordnung zwischen 10^{-15} und 10^{-16} A nachweisen. Wenn man Sekundäremissionsverstärker verwendet, kann die Nachweisgrenze noch um einen Faktor 100 bis 1000 gesteigert werden. Unter günstigen Umständen kann man mit Sekundäremissionsverstärkern noch einzelne Ionen zählen. In Abb. 7 ist ein solcher Sekundäremissionsverstärker schematisch dargestellt. Die Ionen treffen auf die erste Elektrode auf, lösen dort Sekundärelektronen aus, die durch eine Spannung von etwa 300 Volt gegen die zweite Elektrode beschleunigt werden. Dort lösen sie ebenfalls Sekundärelektronen aus, die auf die dritte Elektrode fallen usw. Wenn der Sekundäremissionskoeffizient der Elektroden so groß ist, daß mehr Elektronen emittiert werden als auftreffen, so wird der ein-

fallende Ionenstrom verstärkt. Man kann so noch Ströme bis etwa 10^{-18} A nachweisen. Zum Nachweis der kleinsten Substanzmengen, die massenspektroskopisch bisher nachgewiesen werden können, müssen Sekundäremissionsverstärker verwendet werden.

Gasanalysen.

Am einfachsten durchzuführen sind Gasanalysen, für die man am zweckmäßigsten eine Elektronenstoß-Ionenquelle und ein einfachfokussierendes Massenspektrometer verwendet. Die Gasprobe wird, damit sie aus dem Vorratsgefäß nicht so rasch abfließt, über einen hohen Strömungswiderstand in die Ionenquelle eingelassen. Nehmen wir an, wir hätten ein einheitliches Gas, z. B. Stickstoff, dann wird im Massenspektrum eine Linie bei der Massenzahl 28 und eine Linie bei der Masse 14 beobachtet, die vom Stickstoffmolekül und vom Stickstoffatom herrühren. Beim Sauerstoff liegen die entsprechenden Linien bei den Massenzahlen 32 und 16 (von den Linien der seltenen Isotopen soll jetzt abgesehen werden). Bei CO_2 wird man eine Linie bei der Massenzahl 44 beobachten, die vom Ion des CO_2 -Moleküls herrührt und außerdem noch Linien bei den Massenzahlen 32, 28, 16 und 12, die von den Ionen der Bruchstücke O_2 , CO , O und C des CO_2 -Moleküls herrühren. Die Häufigkeitsverteilung, mit der diese Linien auftreten, ist unter festgelegten Betriebsbedingungen in der Ionenquelle für das CO_2 -Molekül ganz charakteristisch. Bei komplizierteren Molekülen, wie z. B. bei den Molekülen der Kohlenwasserstoffverbindungen, ist die Zahl der beobachteten Bruchstücke viel größer. In Abb. 8a, b, c sind als Beispiele die Massenspektren von Methan, Äthan und Propan zu sehen. Diese Spektren sind stets charakteristisch für das Molekül, von dem sie stammen, und man kann aus dem Massenspektrum erkennen, welche Substanz im Vorratsgefäß vorhanden ist. Da außerdem die Intensität der Massenlinien dem Druck im Vorratsgefäß proportional ist, kann auch der Druck im Vorratsgefäß aus dem Massenspektrum abgelesen werden. Das Massenspektrometer muß dazu allerdings erst geeicht werden, und zwar eigens für jedes Gas, da wegen der verschiedenen Ionisierungswahrscheinlichkeiten die Eichkonstante von Gas zu Gas variiert. Bei Gasgemischen überlagern sich im Massenspektrum die einzelnen Komponenten linear, solange der Druck in der Ionenquelle nicht zu groß wird.

Besonders zur quantitativen Analyse von Kohlenwasserstoffgemischen haben sich Massenspektrometer sehr bewährt und finden dazu auch eine immer weitere Verbreitung in der Industrie. Man kann auf diese Weise mit kleineren Substanzmengen in viel kürzerer Zeit Analysen durchführen, als das nach den bisherigen Methoden der organischen Chemie der Fall war. Besonders für die Bedürfnisse der Petroleumindustrie sind Verfahren ausgearbeitet worden, um mit käuflichen Instrumenten solche Analysen organischer Dämpfe durchzuführen. Da es sich dabei aber nicht um Mikroanalysen handelt, die ja hier besonders interessieren, möchte ich darauf nicht im Detail eingehen.

Mit dem Massenspektrometer kann man auch sehr geringe Gasmengen nachweisen und auf ihre Zusammensetzung untersuchen. Hat man von einem Gasgemisch etwa $\frac{1}{2}$ ml zur Verfügung, so ist es bequem möglich, den ganzen Bereich von der Masse 1 bis etwa 300 durchzusuchen. Kann man sich auf den Nachweis weniger Komponenten beschränken, so kann man unter Umständen noch mit 10^{-4} bis 10^{-5} ml Gas auskommen und wenn zum Ionennachweis ein Sekundäremissionsverstärker benutzt wird, noch mit 10^{-7} bis 10^{-8} ml. Durch besondere Maßnahmen ist es auch schon gelungen, die Nachweisgrenze für ein Edelgas, das in 10^{-3} ml eines anderen Gasgemisches vorhanden ist, auf etwa 10^{-13} ml herabzusetzen.

Der Nachweis und die Untersuchung so kleiner Edelgasmengen ist vor allem an Edelgasen durchgeführt worden, die durch Atomumwandlungen entstanden sind, wie z. B. Helium, das beim Zerfall des Urans durch die natürliche α -Aktivität entsteht, von Argon, das durch radioaktiven Zerfall von Kalium gebildet wird, von Krypton und Xenon, die aus Uran durch Kernspaltung entstehen oder von Xenon, das durch einen neu erfundenen doppelten β -Zerfall in alten Tellurmineralien

nachgewiesen wurde. In diesen Fällen erkennt man auch sofort, daß diese Edelgasspuren durch Kernreaktionen entstanden sein müssen, da sie andere Isotopenzusammensetzung besitzen als die Edelgase in der Atmosphäre.

Feste Stoffe.

Etwas schwieriger und experimentell noch nicht so weit durchgebildet ist die massenspektroskopische Analyse fester Stoffe. Meist wird dazu ein *Hochfrequenzfunken* benutzt. Weil dann die Ionen verschiedene Energien besitzen, muß ein doppeltfokussierender Apparat verwendet werden. Beim Hochfrequenzfunken werden die Substanzen verdampft, ohne daß eine Fraktionierung einsetzt. Zumindest ist bis jetzt bei eigens dafür angestellten Untersuchungen noch keine Fraktionierung nachgewiesen worden. Am besten eignet sich das Verfahren zur Bestimmung von geringen Zusätzen oder Verunreinigungen in einem Metall. Man muß zuerst mit Hilfe eines Massenspektrums von einer Probe bekannter Zusammensetzung eine Eichung durchführen, bevor die einzelnen Komponenten quantitativ bestimmt werden können. In Abb. 9a und b sind an einer Reihe von Edelstahlproben die chemisch bestimmten Chrom- und Nickelgehalte mit den massenspektroskopisch bestimmten Werten verglichen. Man sieht, daß die Analysen innerhalb der Meßfehler miteinander recht gut übereinstimmen und daß die Genauigkeiten, mit der die Konzentrationen der einzelnen Komponenten bestimmt worden sind, einige Prozent beträgt. Bei niedrigen Konzentrationen sinkt die Genauigkeit allerdings ab. Diese Stahlanalysen wurden mit einem doppeltfokussierenden Massenspektrometer gemacht, der Ionennachweis erfolgte also auf elektrischem Wege. Wenn sehr geringe Verunreinigungsspuren in einem Metall nachgewiesen werden sollen, dann wird man besser eine Photoplatte verwenden, weil man dann lange Zeit belichten kann. Die Abb. 10 zeigt ein Massenspektrum von den leichten Elementen, die als Verunreinigungen in einer Uranprobe enthalten waren. Die Expositionszeit war 3 Minuten und es sind dazu im Funken 10 mg Uran verbraucht worden. Es handelt sich hier um eine Eichaufnahme von einer Probe bekannter Zusammensetzung. Die Konzentration, mit der diese Verunreinigungsspuren im Uran vorhanden sind, liegt in der Größenordnung 10^{-3} bis $10^{-5}\%$. Die genauen Daten sind aus der Tabelle 1 zu entnehmen. In der ersten Spalte ist der chemisch bestimmte Spurengehalt angegeben, und zwar in Einheiten von 10^{-6} , in der zweiten Spalte der Uranverbrauch im Funken, der nötig war, um eine nachweisbare Linie

Tabelle 1.

Gehalt an leichten Elementen als Verunreinigungen in der massenspektrographisch untersuchten Uranprobe (siehe Abb. 10). Spalte 1: Gehalt in $10^{-6}\%$ (chemisch bestimmt). Spalte 2: Elektrodenverbrauch in mg bis die Linie im Massenspektrum erscheint. Spalte 3: Nachweisbare Menge in g (nach Dempster, siehe Inghram¹²).

Verunreinigung	1	2	3
⁷ Li	5	.	.
⁹ Be	0,02	2,0	$0,4 \cdot 10^{-10}$
¹⁰ B	0,3	0,4	$1,2 \cdot 10^{-10}$
¹³ C	4	0,2	$8 \cdot 10^{-10}$
¹⁴ N	24	0,01	$2,4 \cdot 10^{-10}$
¹⁶ O	40	0,002	$0,8 \cdot 10^{-10}$
¹⁹ F	1,1	0,08	$0,9 \cdot 10^{-10}$
²³ Na	10	0,005	$0,5 \cdot 10^{-10}$
²⁴ Mg	14	0,025	$3,5 \cdot 10^{-10}$

zu geben, und zwar in mg, und in der dritten Spalte ist die Menge des betreffenden Elementes in g eingetragen, die im Funken verbraucht worden ist, um eine nachweisbare Linie zu zeigen. Ähnlich wie in der optischen Spektroskopie variiert die Nachweisempfindlichkeit von Element zu Element, allerdings weitaus nicht in so hohem Maße wie bei optischen Spektren. Die Streuung beträgt kaum mehr als eine Größenordnung. Für alle diese Elemente muß man etwa 10^{-10} bis 10^{-11} g im Funken verbrauchen, um nachweisbare Linien im Massenspektrum zu

erhalten. In Abb. 11 sind Massenspektren von reinem Blei, von reinem Aluminium und in der untersten Figur ein Massenspektrum von Germanium zu sehen, dem $3 \cdot 10^{-6}$ Teile Antimon zugesetzt waren. Die Grenze für den Nachweis mit Empfindlichkeit bei diesen Untersuchungen ist vor allem durch zwei Ursachen gegeben: 1. durch Störlinien, die aus dem Restgas der evakuierten Apparatur stammen und 2. durch einen allgemeinen Streuuntergrund in der Umgebung sehr intensiver Linien. In der unmittelbaren Umgebung der Massenlinien des Urans ist der Spurennachweis viel unempfindlicher, weil hier bei langer Belichtung die Uranlinien selbst sich zu einem breiten Fleck ausdehnen, der die Nachbarlinien überdeckt.

Es sei nochmals betont, daß bei Untersuchungen mit einem Hochfrequenzfunken als Ionenquelle, ein Apparat mit Energiefilter verwendet werden muß; am zweckmäßigsten also ein doppeltfokussierender Apparat. Obwohl die Firmen, die einfach fokussierende Massenspektrometer herstellen, mit der Entwicklung käuflicher doppeltfokussierender Apparate begonnen haben, sind zur Zeit noch keine solchen Instrumente im Handel zu erhalten und Analysen dieser Art sind daher auf Laboratorien beschränkt, die sich ihre Instrumente selbst bauen.

Statt mit einem Hochfrequenzfunken kann man von festen Körpern auch Ionen durch Ionenbombardement der Proben erhalten. Es ist möglich, daß dieses Verfahren einmal den Hochfrequenzfunken, der experimentell manche Unannehmlichkeiten besitzt, verdrängen wird, doch ist das Verfahren noch in Entwicklung und noch kaum zur Durchführung von Analysen wirklich angewendet worden.

Man kann zur Untersuchung von festen Körpern auch die Ionen mit Elektronenstoß herstellen, dann muß man aber die Proben im Vakuum aus einem elektrisch geheizten Öfchen in der Ionenquelle hineindampfen. Da dabei eine Fraktionierung der einzelnen Komponente eintritt, muß die gesamte Probe vollständig verdampft und die Intensität der einzelnen Massenlinien als Funktion der Zeit aufgenommen werden. Auch mit thermischen Ionenquellen kann man solche Untersuchungen durchführen. Wie empfindlich dieses Verfahren sein kann, ist aus Abb. 12 zu ersehen. Hier wurden verschieden große Rubidiumproben verdampft und der bei Rubidium 85 beobachtete Ausschlag im Massenspektrometer als Funktion der Zeit aufgetragen. Wir haben ohne Sekundäremissionsverstärker noch gut 10^{-13} g Rb nachweisen können. Wenn man zum Ionennachweis einen Sekundäremissionsverstärker verwenden würde, könnte man die gleichen Meßkurven noch mit etwa 1000mal weniger Substanz erhalten.

Verdünnungsanalysen.

Ein Analysenverfahren, das besonders auf die Erfordernisse der Massenspektroskopie zugeschnitten ist und mit dem sehr kleine Substanzmengen recht genau bestimmt werden können, ist das Isotopenverdünnungsverfahren. Wir wollen uns die Grundzüge dieses Verfahrens an einem einfachen Beispiel klarmachen. Nehmen wir an, in irgend einer Probe, die aus einem Gemisch verschiedener Substanzen bestehen kann, sei eine kleine Menge von x Atomen Silber enthalten. Diese unbekannte Menge x soll bestimmt werden. Natürliches Silber hat zwei Isotope mit den Massenzahlen 107 und 109, die gleich häufig in der Natur auftreten. Das Massenspektrum von gewöhnlichem Silber besteht also aus zwei gleich intensiven Linien (Abb. 13a). In unserer Probe sind $\frac{1}{2}x$ Atome ^{107}Ag und $\frac{1}{2}x$ Atome ^{109}Ag enthalten. Wir geben nun y Atome Silber hinzu, das nur aus dem Isotop ^{107}Ag besteht und dessen Massenspektrum aus einer einzigen Linie besteht, wie die Abb. 13b zeigt. In unserer Probe sind dann $\frac{1}{2}x + y$ Atome ^{107}Ag und $\frac{1}{2}x$ Atome ^{109}Ag enthalten. Wenn wir die Probe gut durchmischen, etwas Silber abtrennen (die Abtrennung braucht nicht quantitativ vorgenommen zu werden), so wird im Massenspektrum ein Häufigkeitsverhältnis von ^{107}Ag zu ^{109}Ag von $h = \frac{\frac{1}{2}x + y}{\frac{1}{2}x}$ beobachtet und daraus kann die unbekannte Silbermenge

$$x = \frac{2y}{h-1}$$

bestimmt werden. Damit ist die zu bestimmende Menge eines Elementes im wesentlichen auf eine Isotopenhäufigkeitsbestimmung zurückgeführt. Die Menge des zugegebenen angereicherten Isotops wird man in der Regel volumetrisch unter Verwendung einer Lösung genau bekannter Konzentration durchführen. Im Prinzip kann dieses Verfahren bei allen Elementen angewendet werden, die mehr als ein stabiles Isotop besitzen und das sind immerhin etwa 70 % der Elemente des periodischen Systems. Eine andere Frage ist es, ob man auch die dazu notwendigen angereicherten Isotope bekommt. Auf diesem Gebiet haben sich aber in den letzten Jahren auch für europäische Wissenschaftler die Verhältnisse wesentlich gebessert. Man kann in Amerika von etwa 50 verschiedenen Elementen ca. 200 angereicherte stabile Isotope erhalten und aus Harwell in England sind zur Zeit von etwa 15 verschiedenen Elementen etwa 60 verschiedene angereicherte Isotope zu haben.

Wirklich durchgeführt sind solche Verdünnungsanalysen allerdings bis jetzt bei nicht viel mehr als einem Dutzend verschiedener Elemente. Die ersten massenspektroskopischen Verdünnungsanalysen sind von *Rittenberg* und *Schönheimer*¹⁴ gemacht worden, die mit Hilfe von angereichertem schweren Stickstoff Aminosäuren in komplizierten organischen Stoffgemischen quantitativ bestimmten und damit sehr wesentliche Erkenntnisse über den Eiweißstoffwechsel im lebenden Organismus erzielen konnten. Sie haben dazu mit angereichertem ¹⁵N die zu bestimmende Aminosäure synthetisch hergestellt, eine bekannte Menge davon der zu analysierenden Substanz zugefügt, gut durchmischt und dann die zu bestimmende Säure wieder abgetrennt. Der Stickstoff aus der abgetrennten Probe wurde dann massenspektroskopisch analysiert. Es war dabei ein besonderer Vorteil, daß die Abtrennung der Aminosäure aus dem Stoffgemisch nicht quantitativ durchgeführt zu werden brauchte, weil eine quantitative Abtrennung in diesem Fall gar nicht durchführbar gewesen wäre.

Von *Grosse*, *Hindin* und *Kirshenbaum*¹⁵⁻¹⁷ sind Elementaranalysen der Elemente Kohlenstoff, Stickstoff, Sauerstoff und Schwefel nach der Verdünnungsmethode durchgeführt worden. Bei der Sauerstoffbestimmung wird eine gewogene Menge der zu analysierenden Substanz in einem Reaktionsgefäß aus Platin, zusammen mit einer bekannten Menge von Sauerstoff, bei dem das schwere Isotop ¹⁸O angereichert war, ca. 15 Minuten lang auf 800° erhitzt. Dabei tritt ein Austausch der Sauerstoffatome zwischen dem markierten Sauerstoff und der zu analysierenden Probe ein. Dann wird dem Reaktionsgefäß Sauerstoff entnommen, im Massenspektrometer die Isotopenhäufigkeiten gemessen, und aus der Verdünnung, die das Indikatorisotop durch den Austausch erlitten hat, die Sauerstoffmenge in der zu analysierenden Probe bestimmt. Ein Plattingefäß muß man bei einer solchen Sauerstoffbestimmung verwenden, weil bei Verwendung von Porzellan oder Glas der Sauerstoff der Gefäßwand bei den hohen Temperaturen an dem Isotopenaustausch mit teilnehmen würde und dadurch Fälschungen der Analyse entstünden. Um die Zuverlässigkeit und die Genauigkeit dieser Verfahrens zu prüfen, sind von *Grosse*, *Hindin* und *Kirshenbaum* Proben von reiner Ameisensäure, Essigsäure, Nitroäthan und Äthylester analysiert worden. In Tabelle 2 sind die Ergebnisse zusammengestellt. In der vorletzten Spalte sind die Ergebnisse

Tabelle 2.
Zur Sauerstoffbestimmung in organischen Substanzen nach der Verdünnungsmethode (*Grosse*, *Hindin*, *Kirshenbaum*¹⁷).

Substanz	Essigsäure	Nitroäthan	Äthyläther
Substanzmenge in mg	26,0	20,9	52,7
Angereicherter Sauerstoff in mg	36,5	31,4	12,03
Gemessene O ₂ -Menge (%)	53,4	40,3	19,8
O ₂ berechnet aus der bekannten Zusammensetzung	53,3	42,6	21,6

nach der Verdünnungsmethode aufgeführt, in der letzten Spalte die aus der bekannten Zusammensetzung der Proben berechneten Werte einge-

tragen. Die Übereinstimmung ist in der Regel besser als 1%. In ähnlicher Weise sind Elementaranalysen von Kohlenstoff, Stickstoff und Schwefel überprüft worden.

Verdünnungsanalysen haben sich sehr gut bei der quantitativen Bestimmung der geringen Substanzmengen bewährt, die beim natürlich radioaktiven Zerfall oder bei künstlichen Atomumwandlungen entstehen.

Das Rubidiumisotop der Masse 87 ist radioaktiv und wandelt sich durch β -Emission in ein Strontiumisotop der Masse 87 um. Man kann mit Hilfe dieses radioaktiven Prozesses das Alter rubidiumhaltiger Minerale bestimmen und muß dazu den Rubidium- und den Strontiumgehalt im Mineral ermitteln. Die quantitative Bestimmung der kleinen Strontiummengen ist nicht ganz einfach und *Hahn* und *Straßmann*¹⁸, die zum erstenmal radiogenes Strontium aus einem Mineral abgeschieden haben, mußten größenordnungsmäßig 1 Kilogramm aufarbeiten, um genügend Strontium für eine quantitative Analyse zu bekommen. Daß das abgeschiedene Strontium wirklich radiogen war, haben dann *Mattauch* und *Hauk*¹⁹ massenspektroskopisch bewiesen. Man geht neuerdings dazu über, den Rubidium- und Strontiumgehalt massenspektroskopisch durch Verdünnungsanalysen zu bestimmen. Das Mineral wird aufgeschlossen, es werden einige μg elektromagnetisch angereichertes ^{87}Rb und ^{84}Sr zugesetzt, dann sowohl Rubidium als auch Strontium abgeschieden und die Isotopenhäufigkeiten gemessen. Ganz ähnlich wie im Beispiel des Silbers kann man aus der Verdünnung der Indikatorisotope den Rubidium- und den Strontiumgehalt im Mineral ermitteln. Während *Hahn* und *Straßmann* Kilogrammengen aufarbeiten mußten, kann man hier mit einigen Gramm des Minerals auskommen. Für die massenspektroskopische Untersuchung genügen Mikrogrammbeträge.

Ein anderes Beispiel: Das Kaliumisotop der Masse 40 ist radioaktiv und wandelt sich durch Aussendung eines β -Strahls in ^{40}Ca oder durch Einfang eines Elektrons aus der *K*-Schale in ein Argonatom der Masse 40 um. Um das Verhältnis der Zerfallswahrscheinlichkeiten zu ermitteln, muß man die in einer bestimmten Zeitspanne radiogen gebildete Argon- und Calciummenge bestimmen. Das ist von *Inghram* und Mitarbeitern unter Verwendung von ^{36}Ar und ^{48}Ca als Indikatorisotope durchgeführt worden, wobei sich für das Verzweungsverhältnis der Wert $\frac{\lambda^+}{\lambda^-} = 0,1263 \pm$

$\pm 0,0027$ ergab.

Wie kleine Substanzmengen nach dem Verdünnungsverfahren noch recht genau bestimmt werden können, zeigen vielleicht am eindringlichsten die Bestimmungen des Urangeltes in Meteoriten, die mit Hilfe von angereichertem Uran 235 als Indikator von *Inghram* und Mitarbeitern²¹ durchgeführt wurden. In Abb. 14 ist in der rechten Teilfigur ein Massenspektrum des elektromagnetisch angereicherten ^{235}U zu sehen. Das Massenspektrum ist mit UO_2 -Ionen, die man auf thermischem Wege gut erhalten kann, aufgenommen worden. Die Linie bei 267 entspricht dem Ion $^{235}\text{U}^{16}\text{O}_2$. Die beiden Linien bei 268 und 269 sind hier belanglos, sie entsprechen dem ^{235}U mit den seltenen schweren Sauerstoffisotopen der Masse 17 und 18. Bei der Masse 270 ist noch ein Rest von ^{238}U zu sehen ($^{238}\text{U}^{16}\text{O}_2$), das nicht ganz abgetrennt werden konnte. Zur Uranbestimmung wurde eine bekannte Menge des Meteoriten (etwa 1 g) aufgelöst und eine bekannte Menge des angereicherten Isotops ^{235}U zugefügt (größenordnungsmäßig 1 μg). Dann ist Uran abgeschieden und im Massenspektrometer untersucht worden. Man sieht aus der linken Figur der Abb. 14 sofort, daß in der Probe des Meteoriten etwa fünfmal mehr ^{238}U enthalten gewesen sein muß als in der zugefügten ^{235}U -Menge. Da insgesamt etwa 1 μg ^{235}U zugegeben wurde und darin, wie man aus dem Massenspektrum der rechten Teilfigur sieht, etwa $1/100$, also ca. $1 \cdot 10^{-9}$ g ^{238}U enthalten war, sind in dem untersuchten Stück des Meteoriten etwa $5 \cdot 10^{-9}$ g Uran enthalten gewesen.

Zusammenfassung.

Nach einem kurzen Überblick über die gebräuchlichsten, in der Massenspektroskopie verwendeten Apparate werden an Hand von Beispielen die wichtigsten Analysenverfahren mit besonderer Berücksichti-

gung der quantitativen Bestimmung sehr kleiner Substanzmengen besprochen. Dabei werden massenspektrometrische Gasanalysen, Analysen fester Körper mit dem Hochfrequenzfunken im Massenspektrographen und Analysen durch vollständiges Verdampfen der Proben im Massenspektrometer erörtert. Zum Schluß wird besonders auf die unter Verwendung von getrennten stabilen Isotopen durchgeführten Verdünnungsanalysen eingegangen. An Hand von Beispielen wird gezeigt, daß mit massenspektrometrischen Methoden Gasmengen unter 10^{-8} ml und von festen Körpern noch Mengen unter 10^{-9} g quantitativ recht genau bestimmt werden können. Die qualitative Nachweisgrenze liegt bei vielen Substanzen noch viel niedriger.

Literatur.

- ¹ A. J. Dempster, *Physic. Rev.* **50**, 186 (1936).
 - ² J. Mattauch und R. Herzog, *Z. Physik* **89**, 786 (1934).
 - ³ A. J. Dempster, *Physic. Rev.* **51**, 67 (1937).
 - ⁴ K. T. Bainbridge und E. B. Jordan, *Physic. Rev.* **50**, 282 (1936).
 - ⁵ H. Hoover und H. W. Washburn, *Amer. Inst. Mining Metallurg. Engr., Techn. Publ. No. 1205; Calif. Oil World* **34**, No. 22, 21 (1941).
 - ⁶ H. Washburn in *Physical Methods of Chemical Analysis* Bd. 1, S. 00, herausgeg. von F. Farkas. New York: Academic Press. 1950.
 - ⁷ *Conferences on Mass Spectrometry. The Institute of Petroleum 1950 and 1953* (publiziert 1952 und 1954).
 - ⁸ K. I. Mayne, F. A. Paneth und P. Reasbeck, *Nature* **172**, 200 (1953).
 - ⁹ J. Macnamara, C. B. Collins und H. G. Thode, *Physic. Rev.* **75**, 532 (1949).
 - ¹⁰ M. G. Inghram und J. H. Reynolds, *Physic. Rev.* **76**, 1265 (1949); **78**, 822 (1950).
 - ¹¹ J. G. Gorman, E. J. Jones und J. A. Hipple, *Analyt. Chemistry* **23**, 438 (1951).
 - ¹² M. G. Inghram, *J. Physic. Chem.* **57**, 809 (1953).
 - ¹³ N. B. Hannay, *Rev. Sci. Instruments* **25**, 644 (1954).
 - ¹⁴ D. Rittenberg und Mitarb., *J. Biol. Chem.* **133**, 737, 745 (1940). Schönheimer, D. Rittenberg und Mitarb., *J. Biol. Chem.* **127**, 285, 385 (1939); **128**, 603 (1939); **130**, 703 (1939).
 - ¹⁵ A. V. Grosse, S. G. Hindin und A. D. Kirshenbaum, *J. Amer. Chem. Soc.* **68**, 2119 (1946).
 - ¹⁶ A. V. Grosse, A. D. Kirshenbaum und S. G. Hindin, *Science* **105**, 101 (1947).
 - ¹⁷ A. V. Grosse, S. G. Hindin und A. D. Kirshenbaum, *Analyt. Chemistry* **21**, 386 (1949).
 - ¹⁸ O. Hahn, F. Straßmann und E. Walling, *Naturwiss.* **25**, 189 (1937).
 - ¹⁹ J. Mattauch, *Naturwiss.* **25**, 189 (1937).
 - ²⁰ G. L. Davis und L. T. Aldrich, *Bull. Geol. Soc. Amer.* **64**, 379 (1953).
 - ²¹ M. G. Inghram, *Ann. Rev. Nucl. Sci.* **4**, 81–92 (1954).
- Zusammenfassend: Ewald-Hintenberger, *Methoden und Anwendungen der Massenspektroskopie*. Verlag Chemie Weinheim. 1953.

Abb. 1. Elektronenstoß-Ionenquelle.

Abb. 2. In einem magnetischen Sektorfeld wird der Ionenstrahl nach verschiedenen Massen aufgespalten. Nach dem Feld werden die in verschiedenen Richtungen durch den Schlitze S kommenden Ionen wieder fokussiert.

Abb. 3. Elektrisches Radialfeld als Energiefilter.

Abb. 4. Ein elektrisches Radialfeld und ein magnetisches Sektorfeld kombiniert ergibt einen Massenspektrographen, der scharfe Linien zeigt, auch wenn Ionen verschiedener Energie aus der Ionenquelle kommen.

Abb. 5. Doppeltfokussierender Massenspektrograph nach Mattauch und Herzog. Es entstehen scharfe Linien auf der Photoplatte, auch wenn Ionen etwas verschiedener Energie in verschiedenen Richtungen durch den Eintrittsschlitz des Massenspektrographen kommen.

Abb. 6. Massenspektren von Cadmium.
a) elektrometrisch, b) photographisch aufgenommen.

Abb. 7. Sekundäremissionsverstärker.

Abb. 8. a), b), c) Massenspektren von Methan, Äthan und Propan, d) Massenspektrum einer Mischung aus den drei obigen Komponenten.

Abb. 9. Vergleich zwischen den massenspektroskopischen und den chemischen Analysenergebnissen, a) bei Chrom- und b) beim Nickelgehalt einer Edelmetallprobe (Gorman, Jones und Hipple¹¹).

Abb. 10. Verunreinigungsspuren leichter Elemente in einer Uranprobe (Dempster).

Abb. 11. Massenspektren.
a) von „reinem Blei“, b) und c) von „reinem Aluminium“ und d) von Germanium mit 3 · 10⁻⁶ Teilen Antimonzusatz (Hannay¹³).

Abb. 12. Ausschläge im Massenspektrometer als Funktion der Zeit, wenn verschieden große Mengen Rubidium untersucht werden.

Abb. 13. Zur Verdünnungsanalyse. Massenspektrum von Silber.

a) normales Silber, b) angereichertes Silber, c) Mischung.

Abb. 14. Massenspektren zur Uranbestimmung in Meteoriten nach der Verdünnungsmethode.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/57.

Zeilenanzahl: 291.

Laboratory for Analytical Chemistry (University of Ghent, Belgium).

Determination of Micro-Amounts of Indium in Zinc and in Gallium by Radioactivation.

By

J. Hoste and H. van den Berghe.

(Received April 28, 1955.)

I. Introduction.

The high cross-section of indium for thermal neutrons suggests that radioactivation analysis of this element will be efficient, even with a source having a relatively small neutron flux. The determination of small amounts of indium in zinc seemed especially interesting, as zinc ores are practically the most important source of indium.

Using a 1-g Ra-Be source with a thermal neutron flux of about 10^5 neutron/cm²/sec, a procedure was developed for the determination of indium concentrations down to 0.004%. Using liquid-liquid extraction and a higher neutron flux, much lower concentrations can eventually be determined.

II. Activation Products by (n, γ) Reaction on Zn and In.

The only isotope of interest in our case is the ^{116}In , half-life 54 m, a (β, γ) emitter, formed from ^{115}In . The other indium isotope, ^{113}In , present only for 4.2% in natural indium, gives rise to two species: ^{114}In , half-life 50 d., and ^{114}In , half-life 72 s., both isotopes being either too long or short lived to be of practical interest for our purpose.

From natural zinc, four different species are formed, namely ^{65}Zn , $\tau = 250$ d., $\sigma = 0.51$; ^{69}Zn , $\tau = 13.8$ h., $\sigma = 0.085$; ^{70}Zn , $\tau = 52$ m., $\sigma = 0.89$ and ^{71}Zn , $\tau = 2.2$ m., $\sigma = 0.085$ from ^{64}Zn (48.87%), ^{68}Zn (18.71%) and ^{70}Zn (0.69%).

One can consequently expect that, when an activation time of 5 h. is involved, practically leading to the saturation of indium, the activities of ^{65}Zn and ^{71}Zn will be negligible, owing to their long half-life and small cross-section plus low percentage respectively. The most serious interference will be caused by the ^{69}Zn 52 m isotope, which is a pure β -emitter. Using a well-type NaI-crystal, this interference was avoided and only the activity due to the 13.8 h. isotope is measured.

One can calculate that if the detection efficiencies of ^{116}In and ^{69}Zn are approximately the same, the relative amount In giving the same activity as Zn after an activation period of 5 h. will be:

$$\frac{g_{\text{In}}}{g_{\text{Zn}}} = \frac{M_{\text{In}}}{M_{\text{Zn}}} \cdot \frac{\sigma_{\text{Zn}}}{\sigma_{\text{In}}} \cdot \frac{S_{\text{Zn}}}{S_{\text{In}}} \cdot \frac{\Theta_{\text{Zn}}}{\Theta_{\text{In}}} = \frac{115}{68} \cdot \frac{0.085}{145} \cdot \frac{0.22}{0.98} \cdot \frac{18.7}{95.8} = 4.5 \cdot 10^{-5}$$

This result is in good agreement with the experimental value $6 \cdot 10^{-5}$.

III. Interfering Elements.

The major interference in the determination of In in Zn is due to silver, as this element is normally present in zinc in trace concentrations and has a quite high cross-section for thermal neutrons.

Two isotopes are formed:

^{107}Ag (n, γ)	^{108}Ag
(51.4 %) $\sigma = 30$	$\tau = 2.3$ m.
^{109}Ag (n, γ)	^{110}Ag
(48.6 %) $\sigma = 82$	$\tau = 24$ sec.

It is obvious that the interference due to these isotopes can easily be avoided by counting after complete decay.

IV. Calibration Curve.

A calibration curve was established by activating 10 g silver- and indium-free granular (30 mesh) zinc samples in lucite tubes (Φ 11 mm) fitting the paraffine bloc at about 5 cm distance from the 1-g Ra-Be source.

The In-Zn standards were prepared by adding a definite amount of InCl_3 to a slightly acid (HCl) aqueous suspension of the zinc and occasional shaking.

After staying overnight, the aqueous layer was decanted, washed with distilled water, alcohol and ether. In these conditions the indium is quantitatively deposited on the zinc, as was demonstrated in a separate experiment using ^{114}In as tracer isotope.

Procedure:

10 g dry granular Zn (30 mesh) are introduced in a lucite test tube. This tube is placed in a hole of the paraffine block and activated during 5 h. The sample is transferred into a standard vial fitting the well-type scintillation counter.

Under these experimental conditions the activity due to the zinc is 1.74 c/s per 1 g. As measurements were made within 10 minutes correction for decay of the zinc is negligible.

The activity of the indium, after correcting for decay, is $2.88 \cdot 10^4$ c/s/g.

As equal activities due to indium and to zinc can be measured with reasonable accuracy, one can conclude that indium can be determined in zinc at a concentration as low as 0.004%, without previous separation.

Table I summarizes the results.

Table I.

Sample weight in g	Indium weight in mg	In act. net in c/s	Act. c/s/10 mg In	Deviation
9.6	16.0	442	276	12
9.8	11.2	318	284	4
9.7	8.0	232	290	2
9.6	6.4	178	278	10
9.6	4.81	136	283	5
9.8	3.20	94.4	295	7
9.7	1.60	46.4	280	8
8.9	0.80	24.2	303	15
9.7	0.40	12.0	300	12

Mean activity in c/s/10 mg In: 288 c/s.

Mean error: 2.3%.

If smaller indium contents have to be determined, a quantitative separation from zinc is necessary. This can be carried out by liquid-liquid extraction from 6 M HBr by di-isopropylether, as will be reported elsewhere*. The sensitivity of the method is then limited by the neutron

* Communication in this Congress by Kosta & Hoste.

flux. If one assumes that a sufficient accuracy of the measurement is obtained by an activity amounting to twice the background, which was 3.5 c/s with our counter, the sensitivity of the method only increases twice in the case of 1 g Ra-Be source.

V. Gallium Activation Products.

By activation of natural gallium two radio-active species are formed:

1. ^{69}Ga (60.2%) having a cross-section of 1.4 barn, gives rise to ^{70}Ga , half life 20 m., which is a β -emitter and does not interfere by scintillation counting.

2. ^{71}Ga (39.8%), having a cross-section of 3.4, gives rise to ^{72}Ga , half life 14.1 h. which is a β - γ -emitter.

Due to the relatively high cross section of the ^{70}Ga , the activity of the Ga sample in the experimental conditions described is too high (90 c/s/g)

to allow the direct determination of traces indium without previous separation.

VI. Separation of Gallium/Indium by Liquid-Liquid Extraction.

A separation of indium from gallium has been proposed by *Irving* and *Rossoti*¹¹ by ether extraction from 2 M HI.

The distribution constants of gallium and indium iodide were verified as a function of the hydroiodic acid concentration (prepared from mixtures of potassium iodide plus sulfuric acid), of the metal ion concentration and of an excess of sulfuric acid.

¹¹⁴In (50 d.) and ⁶⁷Ga (78 h.) were used as tracers.

Procedure:

10 ml of the aqueous solution, equinormal with respect to KI and H₂SO₄ and containing In or gallium tracers and carrier are agitated during 3' with 10 ml freshly distilled diethylether. The phases are left to separate and the volume of each phase is measured. A 4 ml sample is pipetted from each phase and introduced into a vial fitting a well-type NaI crystal and the activity measured. The influence of acid concentration was carried out with carrier free ⁶⁷Ga and an In concentration of about 10⁻⁶ M.

The results are summarized in Table II, III, IV, V and VI.

Table II.
Distribution coefficient of Indium iodide as a function of HI concentration.

N H ₂ SO ₄	N KI	Act. c/s/ml H ₂ O	Act. c/s/ml Ether	Vol. H ₂ O	Vol. Ether	d	%e extracted
1	1	0.053	100.46	4.10	16.3	217.9	99.54
1.5	1.5	0.052	102.42	4.40	16.3	226.3	99.56
		0.063	99.40	4.30	16.4	183.5	99.46
2	2	0.064	101.22	4.60	16.2	179.7	99.44
		0.051	101.54	4.20	16.2	226.0	99.56
2.2	2.2	0.051	99.92	4.40	14.1	220.2	99.54
		0.075	100.89	4.20	16.1	151.1	99.34
2.4	2.4	0.055	160.44	3.30	16.2	310.7	99.68

Table III.
Influence of Indium concentration on
the distribution coefficient of Indium
in 2 N HI.

In concentration in mg/10 ml	d	% extracted
1	276.25	99.63
5	336.06	99.70
10	266.4	99.62
20	311.4	99.68
50	293	99.66

Table IV.
Influence of an excess H₂SO₄ on the
distribution coefficient of Indium in
2 N HI.

N H ₂ SO ₄	d	% extracted
2	4704	99.97
2.2	—	100
2.4	204	99.52
2.8	481.2	99.79
3.2	465.8	99.79

Table V.
Distribution coefficient of Gallium iodide as a function of HI concentration.

N H ₂ SO ₄	N KI	Act. c/s/ml H ₂ O	Act. c/s/ml Ether	Vol. H ₂ O ml	Vol. Ether ml	d	% extracted
1	1	4.52	0.078	20.3	8.3	0.017	1.7
1.5	1.5	4.53	0.06	20.9	8.4	0.013	1.28
		4.49	0.12	20.8	8.4	0.026	2.6
2	2	4.29	0.09	20.6	8.5	0.020	2
		4.49	0.06	20.75	8.7	0.013	1.28
2.2	2.2	4.34	0.047	20.9	8.5	0.010	1
		4.55	0.04	20.6	8.6	0.009	0.9
2.4	2.4	4.55	0.025	20.7	8.6	0.006	0.6

Table VI.
Influence of Gallium concentration on
the distribution coefficient of Gallium
in 2 N HI.

Ga concentration %	d	% extracted
0.2	0.0054	0.53
	0.0077	0.77
1	0.0094	0.99
	0.0063	0.63
2	0.021	2
	0.087	0.87
3	0.107	1.07

As was already stated by *Irwin* and *Rossoti*, 2 M HI provides an excellent medium for the separation of indium from gallium by ether extraction. The distribution constant is independent in a wide range from the indium and gallium concentrations and independent from an excess sulfuric acid eventually present.

VII. Calibration Curve for the Determination of In in Ga.

Procedure:

0.5 g Ga was dissolved in 10 ml 4 N H₂SO₄, transferred into a lucite tube and placed in a hole of the paraffine.

After activation during 5 hours, 10 ml 4 N KI are added and the In extracted with 5 ml ether. The ether is collected in a standard vial fitting the well-type crystal and the activity of the In measured. Under these experimental conditions the ether phase has an activity of 0.4 c/s due to the extraction of the gallium and has to be subtracted from the activity measured. Table 7 summarizes the results for In contents from 4% down to 0.04%.

Table VII.

% In	In Act. c/s net	Act. c/s/20 mg In	Error
4.0	495	495	3
2.0	253	506	8
1.0	121	484	14
0.2	25.1	504	6
0.1	12.1	484	14
0.04	5.14	514	16

Average: 498.

Mean error: 2%.

Aknowledgements are due to Prof. de *Hemptinne* for the preparation of ⁶⁷Ga in the Louvain cyclotron and to Prof. Z. *Eeckhaut* for valuable suggestions.

Summary.

A method was developed to determine micro-amounts of indium in zinc and in gallium by radioactivation analysis, using 1 g Ra-Be as thermal-neutron source. By activation of an amount of 10 g metallic zinc during 5 hours and counting the activity in a well-type NaI-scintillation counter,

17.4 counts per sec. per log Zn were obtained. This activity is practically entirely due to the 13.8 h. ^{69}Zn , the 52 m isotope being a pure β -emitter.

By activation of indium in the same conditions the ^{116}In , 54 m isotope, gives a counting rate of 28.9 counts per second per 10 mg metal, so that it was possible to determine amounts of indium in zinc, using 10 g samples varying from 0.004% to 0.16% with a mean error of 2.3%, without chemical separation. To determine trace amounts of Indium in Gallium by activation at the same conditions as described above, it was necessary to carry out a chemical separation. 1 g metallic Ga gave indeed rise to an activity of 115 counts per second, mainly due to the 14.1 h. ^{72}Ga . The activation of the Ga-In samples was therefore carried out in an aqueous solution of their sulfates. After activation, potassium iodide and sulfuric acid were added as to obtain a 2 M solution of HI. The indium iodide was then extracted with diethyl ether and the ethereal solution introduced in a vial fitting the well-type crystal. Using 0.5-g Ga samples it was possible to determine indium amounts down to 0.2 mg, with a mean error of about 5%.

Zusammenfassung.

Eine Methode zur Bestimmung kleiner Mengen Indium in Zink und in Gallium durch Aktivierungsanalyse wurde unter Verbindung von 1 g Ra-Be als thermische Neutronenquelle entwickelt. Nach Aktivierung von 10 g metallischem Zink durch 5 Stunden und Bestimmung der Aktivität in einem becherförmigen NaJ-Szintillationszähler wurden 17,4 Stöße pro Sekunde pro log Zn beobachtet. Diese Aktivität kommt praktisch völlig dem ^{69}Zn von der Halbwertszeit 13,8 Stunden zu, da das Isotop mit der Halbwertszeit 52 Minuten ein reiner β -Strahler ist.

Durch Aktivierung von Indium unter den gleichen Bedingungen gibt ^{116}In mit der Halbwertszeit 54 Minuten 28,9 Stöße pro Sekunde für 10 mg Metall, so daß es möglich war, unter Verwendung von 10 g Zink Indiummengen zwischen 0,004% und 0,16% mit einem mittleren Fehler von 2,3% ohne vorhergehende chemische Trennung darin zu bestimmen. Zur Bestimmung von Indiumspuren in Gallium durch Aktivierung unter den gleichen Bedingungen war es notwendig, eine chemische Trennungsmethode auszuarbeiten. 1 g metallisches Gallium zeigte tatsächlich einen Anstieg der Aktivität auf 115 Stöße pro Sekunde pro 1 g, die vor allem dem ^{72}Ga der Halbwertszeit 14,1 Stunden zukommt. Die Aktivierung der Ga-In-Proben wurde daher in einer wäßrigen Lösung ihrer Sulfate durchgeführt. Nach der Aktivierung wurde Kaliumjodid und Schwefelsäure bis zu 2-m Konzentration an Jodwasserstoff zugesetzt. Das Indiumjodid wurde dann mit Diäthyläther extrahiert und die ätherische Lösung in eine dem becherförmigen Kristall angepaßte Schale gebracht. Unter Verwendung von 0,5 g Gallium war es möglich, Indiummengen bis herab zu 0,2 mg mit einem mittleren Fehler von etwa 5% zu bestimmen.

References.

- ¹ H. M. Irving and F. Jc. Rossoti, *Analyst* 77, 801 (1952).

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/58.

Zeilenanzahl: 180.

Chemical and Radiological Laboratories, Army Chemical Center, Maryland.

Microanalysis of Perfluoro Compounds.

By

Cecil A. Rush, Stewart S. Cruikshank, and Erna J. H. Rhodes.

(Received April 30, 1955.)

The analysis of completely fluorinated organic compounds has been difficult because of their extreme thermal stability and resistance to chemical attack. Combustion with oxygen over copper oxide at 950° C, or over quartz chips and platinum at 1000° C, gives low results for the carbon determination. Boiling with sulfuric acid for four hours often leaves the compound unchanged, and a pool of the original sample can be seen on the bottom of the digestion flask.

Carbon and Hydrogen:

A method¹ for the determination of carbon and fluorine in perfluoro compounds consists of burning the sample in moist oxygen over quartz chips and platinum in a combustion tube at 1200° C. Hydrogen is not determined.

In our laboratory it was desired to determine both carbon and hydrogen on the same sample. The presence of hydrogen can show the incomplete fluorination of the compound, or the hydrogen value can be used as an indication of the purity, or the structure of compounds containing other groups in addition to the perfluoro groups.

Since it is difficult to maintain combustion furnaces and Vicor (96 per cent silica) or quartz tubes above 1000° C without occasional failure of the heating element, or softening or devitrification of the combustion tube, it was decided to try conventional micro combustion furnaces and Vicor combustion tubes first.

25-cm sections of various metallic oxides were tried. The following gave low carbon values at temperatures up to 950° C: copper oxide, calcium oxide, cobalt oxide, cobalt aluminate, nickel oxide, cerium oxide, lanthanum oxide, magnesium oxide. (Magnesium oxide gave correct results for the first few samples, but became inactive due to absorption of fluorine or prolonged high temperatures.)

Activated aluminum oxide of the indicating type which contains cobalt, gave correct carbon results at 850° C on 30 successive samples. However, due to absorption of water, a two-hour sweeping was required to give correct hydrogen.

Plain activated alumina failed due to fusion with the combustion tube, causing early development of cracks and collapse of the tube, a difficulty which did not occur with the indicating alumina.

The preparation of magnesium aluminate, $MgAl_2O_4$, was attempted. Equimolar solutions of magnesium and aluminum chlorides were combined. The precipitate formed when ammonium hydroxide was added, was filtered, dried at 150° C overnight, and heated at 1000° C for two hours. Subsequent analysis, however, gave the exact theoretical values for the compound $3 MgO \cdot Al_2O_3$.

The resulting cake and lumps were broken up, sieved, and 10 to 35 mesh size used (between 0.5 mm and 2.0 mm).

The compound $3 MgO \cdot Al_2O_3$ was tried and found successful for carbon and hydrogen determinations and is now being used for either micro or semi-micro determinations. $MgAl_2O_4$ will be prepared and tried at a later date.

After some experimentation the following combustion tube filling

has proved best of those tried for a variety of compounds containing various elements: In the following order: (1) 5 cm Ag at 950° C; (2) 16 cm 3 MgO · Al₂O₃; 2 cm Ag at 950° C; (3) 4 cm Ag; 4 cm Pb₂O₃ at 450° C; (4) 3 cm Ag; 2 cm PbO₂; 3 cm Ag at 180° C. Sections (1), (2), (3), and (4) are contained in separate furnaces. Some variation in lengths of sections is no doubt possible. The above lengths are convenient for furnaces commercially available here.

The furnaces are electrically heated. Automatic advance of sample burner is used. The flow rate is 8 ml per minute. The sample burner is operated at 950° to 1000° C.

The standard compound used for checking the apparatus is perfluoro dibutyl ether, (C₄F₉)₂O, which is a difficult one, and cyclic C₈F₁₆O, which is said to be most difficult. Teflon (polytetrafluoromethane) should not be used as a standard. For reasons which are not completely clear, this material gives correct results on our conventional carbon and hydrogen apparatus at 725° C.

Compound	Per Cent Carbon		Per Cent Hydrogen		Per Cent Fluorine	
	Calculated	Found	Calculated	Found	Calculated	Found
(C ₄ F ₉) ₂ O	21.2	21.3	0	0.0	75.4	75.3
c-C ₈ F ₁₆ O	23.1	23.1	0	0.1	73.1	72.9
CF ₃ CH ₂ OH	24.0	24.1	3.0	3.1	57.0	57.2

A wide variety of other compounds containing the additional elements phosphorus, nitrogen, sulfur, chlorine, bromine, and oxygen have been successfully analyzed with equally correct results.

Fluorine:

Fluorine has been determined¹ by combustion of the perfluoro compound at 1200° C in moist oxygen over quartz chips and platinum, absorption of the silicon tetrafluoride formed and titration with thorium nitrate. In another method² fluorine is determined in a special nickel bomb, by heating the sample with potassium at 550° C for four hours.

Due to the inconvenience of the latter method, and the frequent leakage and sticking of the cover of the bomb, ordinary nickel sodium peroxide bombs with a lead gasket, were tried in our laboratories³ on a macro scale. Successful results led to our micro adaptation.

Micro sodium peroxide bombs failed due to melting of the gasket. A semi-micro was used successfully with either a lead or copper gasket. The method follows:

About 0.5 g of freshly cut sodium is placed in the bomb and the sample added. If the sample is a liquid, a glass capillary is used; if a solid, the sample can be added directly. The bomb is placed in a rack behind a shield and heated rapidly from the bottom with a gas-oxygen torch. The bottom of the bomb upward for a distance of 1 to 1.5 cm should be held at a dull red heat for at least 20 seconds. To prevent the upper part of the bomb from over heating, water is placed in the space between the cover assembly and the cover. Lead gaskets have proved satisfactory. Copper gaskets can be used if difficulty is encountered. After cooling, the unreacted sodium is reacted with about 20 ml of ethyl alcohol. About 30 ml of water are added, the solution filtered, neutralized, buffered, and titrated with 0.02 M thorium nitrate in the conventional manner. If phosphorus is present, the solution must be distilled; if metals are present, they are removed by cation exchange. The table above shows typical analyses.

Phosphorus:

The *Carius* digestion has proved satisfactory. The sample is sealed with nitric acid in a heavy-walled tube in the usual manner, and heated at 300° C for four hours. Gravimetric determination by precipitation with ammonium phosphomolybdate follows in the usual manner.

Nitrogen:

The determination of nitrogen by the *Kjeldahl* method usually fails due to failure of the compound to react with sulfuric acid, or volatilization

and loss of the sample. Conventional micro *Dumas* determinations have given no difficulty. The stationary furnace is at 800° C, and the movable burner is operated at 900° C.

Chlorine, Bromine, and Iodine:

No difficulty has been encountered with the *Carius* digestion and subsequent gravimetric determination as silver halide.

Sulfur:

Sulfur has been determined by *Carius* digestion and precipitation as barium sulfate.

Oxygen:

Oxygen has not been determined successfully here. The *Unterzaucher* method, unmodified, gives very high results. Elements other than fluorine, such as phosphorus, interfere. Modifications will be tried and a suitable combustion worked toward.

Summary.

Because of the extremely high thermal and chemical stability of perfluoro organic compounds, special methods of analysis are required for carbon, hydrogen and fluorine. Sulfur, phosphorus, and halogens can be determined by conventional *Carius* digestion and subsequent gravimetric methods. Nitrogen is determined by the *Dumas* method. Oxygen cannot be determined by the usual *Unterzaucher* method.

Carbon and hydrogen are determined by combustion in oxygen with a tube filling consisting of (Ag; 3 MgO · Al₂O₃; Ag) at 950° C; (Ag; Pb₂O₃) at 450° C; (Ag; PbO₂; Ag) at 180° C. The sample burner is operated at 950° to 1000° C.

Fluorine is determined by reaction with sodium in a conventional sodium peroxide bomb with lead or copper gasket. The lower part of the bomb is held at red heat with a torch for about 20 seconds. The sodium fluoride from the reaction is titrated with thorium nitrate.

Zusammenfassung.

Für die Bestimmung von Kohlenstoff, Wasserstoff und Fluor in organischen perfluorierten Verbindungen sind wegen deren außerordentlich hoher thermischer und chemischer Stabilität spezielle analytische Methoden notwendig. Schwefel, Phosphor und die Halogene können nach *Carius* bzw. mit den üblichen gravimetrischen Methoden bestimmt werden. Sauerstoff kann nicht nach der *Unterzaucher*-Methode bestimmt werden.

Kohlenstoff und Wasserstoff sind bestimmbar bei Verbrennung mit einer Rohrfüllung aus (Ag; 3 MgO · Al₂O₃; Ag) bei 900°; (Ag; Pb₂O₃) bei 450°; (Ag; PbO₂; Ag) bei 180°. Der bewegliche Brenner arbeitet bei einer Temperatur von 950° bis 1000°.

Fluor kann durch Umsetzung mit Natrium in einer gewöhnlichen Peroxyd-Bombe mit Blei- oder Kupfer-Dichtung bestimmt werden. Der untere Teil der Bombe wird mit einem Gebläse für 20 Sekunden auf Rotglut erhitzt. Das gebildete Natriumfluorid wird in der gewöhnlichen Weise mit Thorium-nitrat titriert.

References.

- ¹ H. E. Freier, B. W. Nippoldt, P. B. Olson, and D. G. Weiblen, *Analyt. Chemistry* **27**, 146 (1955).
- ² R. H. Kimball and L. E. Tufts, *Analyt. Chemistry* **19**, 150 (1947).
- ³ J. Rothstein, Private communication.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/59.

Zeilenanzahl: 203.

Aus dem I. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

Eine einfache und empfindliche Methode zur Bestimmung von Radiokohlenstoff (^{14}C).

Von

L. Sverak.

Mit 3 Abbildungen.

(Eingelangt am 26. April 1955.)

In den letzten Jahren hat das langlebige Kohlenstoffisotop ^{14}C in vielen Zweigen der Wissenschaft besondere Bedeutung erlangt, was sich auch in einer steigenden Anzahl von Veröffentlichungen äußert. Dabei hat man sich auch besonders mit der empfindlichen Bestimmung von Radiokohlenstoff befaßt, da die einfache Messung mit dem Fensterzählrohr wegen der Weichheit der β -Strahlung des ^{14}C in vielen Fällen nicht anwendbar ist. Es haben sich hauptsächlich drei Gruppen von empfindlichen Bestimmungsmethoden entwickelt: Die Messung mit dem „Innen“-Zählrohr, mit der Photoplatte und nach der Szintillationsmethode. Ein wesentlicher Gesichtspunkt ist dabei die Erzielung eines möglichst niedrigen Leerwertes, dessen Größe ein entscheidendes Kriterium für die Empfindlichkeit der Bestimmungsmethode ist. Es sei an dieser Stelle kurz das Wesentliche der genannten Methoden beschrieben.

Bei der photographischen Methode wird die Probe in flüssiger Form in eine dünnwandige Glaskapillare eingebracht, die dann in eine elektronenempfindliche Bromsilberemulsion eingebettet wird. Nach länger dauernden Expositionszeiten werden die Bahnspuren der Elektronen, die durch die Glaswand hindurch in die Emulsion eingetreten sind, visuell ausgezählt. Die Methode hat den Vorteil sehr niedriger Erfassungsgrenze und geringen apparativen Aufwands, ist aber mühsam. Die eingesetzten Mengen Kohlenstoff sind von der Größenordnung 10^{-4} Millimol. Die Zählausbeute beträgt ca. 40%¹.

Die Szintillationsmethode beruht darauf, daß die durch einen ionisierenden Strahl in einer geeigneten Substanz hervorgerufene kurz dauernde Leuchterscheinung über einen Photoelektronenvervielfacher mit anschließender hoher Verstärkung von einem Zählwerk registriert wird. Die spontane Emission thermischer Elektronen innerhalb des Vervielfachers verursacht einen hohen Leerwert. Am einfachsten läßt sich dieser Teil des Leerwertes durch Kühlung des Vervielfacher herabsetzen². Neuerdings verwendet man aber zur Herabsetzung dieser Leerwertkomponente zwei Elektronenvervielfacher in Koinzidenzschaltung³. Schließlich kann die weitere Leerwertkomponente, die von der kosmischen Strahlung herrührt, durch Verwendung von Schirmzählrohren in Antikoinzidenzschaltung eliminiert werden, wenn höchste Empfindlichkeit erreicht werden soll³. Wie leicht ersichtlich ist, ist bei Arbeiten mit dem Szintillationszähler der apparative Aufwand beträchtlich. Auch liegt die Zählausbeute nur bei ca. 70%.

Bei der Messung mit dem „Innenzählrohr“ wird die aktive Probe als Gas, als Flüssigkeit oder als fester Körper ins Innere des Zählrohres gebracht. Die besten Ausbeuten liefern die Methoden, bei denen die zu messende Kohlenstoffverbindung direkt als Zählrohrfüllgas verwendet wird, wobei man entweder im Proportionalbereich oder im Geigerbereich arbeiten kann. Die am meisten verwendeten Verbindungen sind Kohlendioxyd, Acetylen und Methan. Am einfachsten ist es wohl, Kohlendioxyd als Füllgas zu verwenden, da man alle Kohlenstoffverbindungen leicht in Kohlendioxyd überführen kann. Es ist jedoch oft behauptet

worden, daß sich Kohlendioxyd zur Füllung von Zählrohren nicht gut eigne^{4,5}. Daher wird reines Kohlendioxyd zumeist nur zur Füllung von Proportionalzählrohren verwendet⁶.

Die Arbeit im Geiger-Bereich bietet gegenüber der Arbeit im Proportionalbereich den grundsätzlichen Vorteil wesentlich größerer Einfachheit des Gerätes. Doch glaubten die meisten Autoren, im Geiger-Bereich nur mit Zusatz von Fremdgasen, z. B. Schwefelkohlenstoff⁴, zum Kohlendioxyd brauchbare Konstanzbereiche erhalten zu können. Im Gegensatz dazu verwendet die an unserem Laboratorium entwickelte Methode reines Kohlendioxyd (ohne Zusatz von Fremdgasen) für Geiger-Zählrohre⁷. Die Zählrohrausbeuten, die durch das Verhältnis von aktivem und inaktivem Volumen bestimmt sind, sind gut (80 bis 90%). Die Konstanzbereiche sind lang (ca. 400 Volt) und weisen praktisch keine Steigung auf.

Die Kohlensäure wird aus Bariumkarbonat entwickelt und muß nicht besonders vorgereinigt werden. Sie soll nur frei von Luft sein; auch empfiehlt sich gute Trocknung. Eine Füllung des Zähl-rohrs beansprucht nur 15 Minuten. Aus diesem Grunde eignet sich die Methode besonders für Serienuntersuchungen. Die verwendeten Zählrohre (Abb. 1) bestehen aus einem Messing- oder Kupferrohr (Kathode), an dessen Enden zwei Glaskappen, die mit einem Hahn bzw. einem gläsernen Kühlfinger versehen sind, vakuumdicht angekittet werden. Als Anode dient ein 0,1 mm starker Wolframfaden, der zentrisch gespannt wird. Da Kohlendioxyd kein selbstlöschendes Gas ist, werden die Zählrohre mit einem äußeren Löschkreis betrieben.

Für die Empfindlichkeit der Messung ist letzten Endes der Leerwert entscheidend. Zur Herabsetzung des Leerwertes müssen Geiger- wie auch Proportionalzählrohre gepanzert werden. Letztere werden außerdem häufig mit besonderen elektronischen Kreisen betrieben, die zur Aussonderung der Impulse richtiger Höhe dienen⁸⁻¹⁰. Das Blei (Eisen, Quecksilber) der Panzerung schützt vor der radioaktiven Strahlung der Umgebung, absorbiert aber nur einen Teil der auftreffenden kosmischen Strahlung. Der Hauptanteil des Leerwertes, der durch die kosmische Strahlung verursacht wird, kann durch Panzerung nicht beseitigt werden. Daher haben wir für die von uns verwendeten Geiger-Zählrohre zur Unterdrückung dieses Anteiles ein Antikoinzidenzgerät gebaut¹¹.

Die Wirkung dieses Gerätes beruht darauf, daß die harte Komponente der kosmischen Strahlung wegen ihrer großen Durchdringungskraft imstande ist, gleichzeitig nicht nur das Meßzählrohr, sondern auch die „Schirmzählrohre“ auszulösen, die um das Meßzählrohr angeordnet sind. Auch tritt die kosmische Strahlung häufig in Schauern auf, wodurch ebenfalls eine Vielzahl von benachbart angeordneten Zählrohren gleichzeitig betätigt wird. Wenn man nun eine elektronische Schaltung verwendet, die automatisch alle jene Impulse von der Zählung ausscheidet, die außer im Meßzählrohr gleichzeitig in einem der Schirmzählrohre auftreten, so wird dadurch der Leerwertanteil, der durch die kosmische Strahlung verursacht ist, weitgehend ausgeschaltet. Die Impulse aus dem Meßzählrohr, die nicht von gleichzeitigen Impulsen in einem der Schirmzählrohre begleitet sind, müssen durch Radioaktivität hervorgerufen sein.

Der von uns verwendete Antikoinzidenzkreis ist ein modifizierter Koinzidenzkreis nach *Bothe*. Der Löschkreis besteht aus einem Pentoden-univibrator mit anschließender Verstärkerstufe. Abb. 2 gibt schematisch die Antikoinzidenzschaltung wieder. Auffallend ist die Einfachheit der Anordnung.

Die negativen Impulse aus dem Meßzählrohr werden in einem Pentodenunivibrator rechteckig gemacht, in einem Verstärker umgekehrt und über einen Kondensator der Kathode des Zählrohres zugeführt. Die Einstellung der Löschimpulsbreite erfolgt so, daß die Entladung im Zählrohr sicher gelöscht wird, aber andererseits keine übermäßigen Verluste an echten Zählimpulsen durch zufällige Koinzidenzen entstehen.

Gleichzeitig werden die Impulse aus dem Pentodenunivibrator differenziert und über einen Triodenunivibrator dem Schirmgitter einer

Pentode EF 42 (Antikoinzidenzstufe) zugeführt. Dem Steuergitter dieser Pentode werden über Triodenunivibratoren und Umkehrstufen die Impulse aus den Schirmzählrohren zugeführt. Sie bleibt gesperrt, wenn Schirm- und Steuergitterimpuls gleichzeitig auftreten.

Die geometrische Anordnung der Schutzzählrohre und des Panzers gibt Abb. 3 wieder. In besonderen Versuchen wurde festgestellt, daß es günstiger ist, die Schirmzählrohre oberhalb und unterhalb des Meßzählrohres statt seitlich anzuordnen. Die Schirmzählrohre sind „G-60“-Zählrohre der Twentieth Century Electronics Co., England. Die Panzerung besteht aus zwei konzentrischen Bleizylindern von je 2,5 cm Wandstärke.

Mit dieser Anordnung konnten wir den Leerwert eines Kupferzählrohres von 9,5 cm Kathodenlänge und 1,5 cm Durchmesser von 50 Stößen/min ohne Panzerung oder Antikoinzidenz auf 4,8 Stöße/min herabsetzen. Offenbar könnte bei Verwendung von mehr Schutzzählrohren und stärkerer Panzerung der Leerwert noch weiter herabgesetzt werden.

Die Tabelle 1 gibt einen Überblick über die Leistungsfähigkeit der wichtigsten heute üblichen Methoden zur empfindlichen Bestimmung von Radiokohlenstoff. Die Erfassungsgrenze sei dabei stets dadurch definiert, daß die zu messende Aktivität der Probe dem Leerwert des Gerätes gleichkommt. Natürlich lassen sich in allen Fällen auch noch wesentlich niedrigere Aktivitäten messen.

Tabelle 1.

	Erfassungsgrenze (Curie)	Eingesetzte Menge C (Millimol)	Grenzaktivität (Curie/Millimol)
Geigerzählrohr, AK ¹¹	$2,2 \cdot 10^{-12}$	0,75	$2,7 \cdot 10^{-12}$
Proportionalzähler, CO ₂ , AK ¹⁰	$6 \cdot 10^{-12}$	1000	$6 \cdot 10^{-15}$
Proportionalzähler, C ₂ H ₂ , AK ⁹	$1 \cdot 10^{-12}$	75	$1,3 \cdot 10^{-14}$
Libby-Zählrohr, AK ¹²	$2 \cdot 10^{-12}$	660	$7 \cdot 10^{-14}$
Scintillationszähler ²	$3 \cdot 10^{-11}$	250	$2 \cdot 10^{-14}$
Photoplatte ¹	$1 \cdot 10^{-15}$	$2 \cdot 10^{-4}$	$10 \cdot 10^{-11}$

AK = Antikoinzidenz.

Wie aus der Tabelle 1 leicht ersichtlich ist, wird man sich bei der Wahl der Meßmethode nicht nur nach der Erfassungsgrenze, sondern auch nach der für jede Probe zur Verfügung stehenden Menge Kohlenstoff zu richten haben. Beispielsweise wird sich der Proportionalzähler, etwa nach *Fergusson*, dann bewähren, wenn eine große Masse an wenig aktivem Kohlenstoff zur Verfügung steht, die photographische Methode hingegen dann, wenn die Probemasse sehr klein ist.

Im ganzen scheint jedoch, daß für mikrochemische Reihenuntersuchungen, besonders z. B. für Zwecke der Biochemie, in den meisten Fällen die Verwendung des Gas-Geiger-Zählrohres, gegebenenfalls unter Anschluß an Antikoinzidenzschaltung, die größten Vorteile bietet.

Zusammenfassung.

Es wird eine Methode zur empfindlichen Bestimmung von Radiokohlenstoff (¹⁴C) beschrieben, die sich besonders für Serienuntersuchungen eignet. Reines Kohlendioxyd wird zur Füllung von Geiger-Zählrohren verwendet, die mit einem äußeren Löschkreis betrieben werden. Die Ausbeute ist gut (80 bis 90%) und die Konstanzbereiche sind lang (ca. 400 Volt). Da für die Empfindlichkeit der Messung letzten Endes der Leerwert entscheidend ist, wurde zum Anschluß an die verwendeten Gas-Geiger-Zählrohre ein Antikoinzidenzgerät gebaut, mit dessen Hilfe es gelang, den Leerwert um einen Faktor 10 herabzusetzen.

Außerdem wird ein kurzer Überblick über die heute üblichen Methoden zur empfindlichen Bestimmung von Radiokohlenstoff gegeben und es werden deren Vor- und Nachteile besprochen. Ihre Leistungsfähigkeit ist in einer Tabelle angeführt.

Summary.

A method is described for the sensitive determination of radio carbon ¹⁴C, which is especially suited to series studies. Pure carbon dioxide is used to fill Geiger counter tubes, which are operated with an external quenching

circuit. The yield is excellent (80 to 90%) and the constance ranges are long (about 400 v).

Since, in the final analysis, the blank value is decisive for the sensitivity of the measurements, an anticoincidence device was built in conjunction with the gas Geiger counter tube and with its aid it was possible to lower the blank value by a factor of 10.

Furthermore, a short survey is given of the present methods of accurately determining radio carbon; their advantages and disadvantages are discussed. A table shows their efficiency.

Literatur.

- ¹ M. Reinharz und G. Vanderhaeghe, Nuovo Cimento **12**, 243 (1954).
- ² B. N. Audric und J. V. P. Long, Radioisotope Conference **1954**, Harwell, Vol. 2.
- ³ R. D. Hiebert und R. J. Watts, Nucleonics **11**, (12), 38 (1953).
- ⁴ S. C. Brown und W. W. Miller, Rev. Sci. Instruments **18**, 496 (1947).
- ⁵ J. Labeyrie, J. physique Radium **12**, 146 (1951).
- ⁶ Siehe z. B. E. Finjer und H. Neuert, Zählrohre und Szintillationszähler, Karlsruhe: G. Braun, 1954.
- ⁷ E. Broda und G. Rohringer, Z. Naturforsch. Sb, 159 (1953); Z. Elektrochem. **58**, 634 (1954).
- ⁸ A. R. Crathorn, Radioisotope Conference **1954**, Harwell, Vol. 2.
- ⁹ H. E. Suess, Science **120**, 5 (1954).
- ¹⁰ G. J. Fergusson, Nucleonics **13**, (1), 18 (1955).
- ¹¹ G. Rohringer, L. Sverak, E. Broda und K. Liebscher, Mh. Chem. **86**, 117 (1955).
- ¹² W. F. Libby, Radiocarbon Dating. Chicago: 1952.

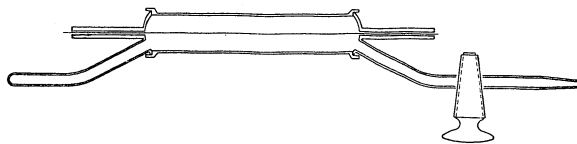


Abb. 1. Gaszählrohr.

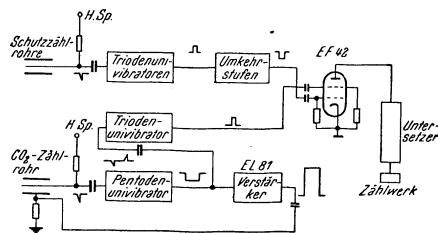


Abb. 2. Schema der Antikoinzidenzschaltung.

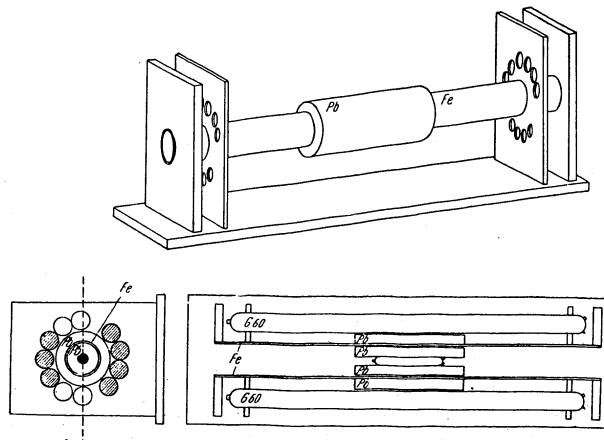


Abb. 3. Anordnung von Panzer und Zählrohren.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/60.

Zeilenanzahl: 229.

Optische Werke C. Reichert A. G., Wien.

Ein Beitrag zur Fernsehmikroskopie.

Von

F. Gabler.

Mit 3 Abbildungen.

(Eingelangt am 30. April 1955.)

Die Kombination einer Fernseheinrichtung mit einem Mikroskop wurde in neuerer Zeit mehrfach erwogen und auch realisiert¹: das von einem normalen Mikroskop gelieferte Bild wird von einer Fernsehkamera aufgenommen und auf dem Schirm eines Fernsehempfängers wiedergegeben. Die Vorteile und die Möglichkeiten, die man durch das Beschreiten des Umweges über die Fernseheinrichtung gewinnt, statt das Bild direkt zu beobachten, sind leicht zu überblicken:

Zunächst kann die Mikrofernseheinrichtung (MFE) als lichtstarkes Projektionsmikroskop dienen. Bekanntlich ist die Mikroprojektion, insbesondere bei stärkeren Vergrößerungen, eine heikle Angelegenheit. Man kämpft ständig mit Lichtmangel und es gibt in der Praxis keine Lichtquelle, deren Leuchtdichte hinreichen würde, um das Auflösungsvermögen eines starken Ölimmersionsobjektives auszunützen, wenn vor einem größeren Personenkreis projiziert werden soll. Bei Durchlichtprojektion bleibt z. B. die Darstellung der Feinstruktur gewisser Kieselalgen stets nur wenigen Beobachtern in der Nähe des Projektionsschirmes sichtbar. Und ähnlich, wenn nicht noch schlimmer, ist es um die Auflichtprojektion bestellt! Die Überlegenheit der MFE liegt darin, daß, weitgehend unabhängig von der Beleuchtungsintensität, die Helligkeit am Bildschirm durch die Leistungsfähigkeit des elektronischen Verstärkeraggregates gegeben und daher willkürlich einstellbar ist. So ist es gar nicht notwendig, das oft sehr empfindliche mikroskopische Präparat (z. B. Gewebe- oder Bakterienkulturen) durch allzu intensive Beleuchtung, die immer mit starker Wärme- oder UV-Bestrahlung verbunden ist, zu gefährden. Für die erforderliche Bildschirmhelligkeit sorgt die elektrische Verstärkereinrichtung.

Über die Projektionsmöglichkeit an sich geht aber der Vorteil der nahezu beliebigen Entfernung zwischen Mikroskop und Bildschirm des Fernsehempfängers weit hinaus. Das Mikroskop samt Fernsehkamera kann etwa im Laboratorium stehen, das Wiedergabegerät im Hörsaal. Ja das Mikroskop kann fernbedient und aus Sicherheitsgründen ganz isoliert, blei- und betongepanzert, aufgestellt sein — eine Arbeitsmethode, die im Zeitalter der rapid ansteigenden Verwendung radioaktiver Stoffe bald selbstverständlich werden wird.

Und noch eines: von der mikroskopischen Wiedergabe verlangt man gute Auflösung von Objekteinheiten und gleichzeitig möglichst starke Bildkontraste. Das Auflösungsvermögen ist bekanntlich eine Frage der Optik. Hier sind die Möglichkeiten vorgegeben und ausgeschöpft. Um die Steigerung der Kontraste hingegen kämpft der Mikroskopiker hartnäckig: Färben und Ätzen sind die Hilfsmittel, und wo diese versagen, hilft vielleicht die Dunkelfeldbeleuchtung oder das Phasenkontrastverfahren. Trotz allem aber lassen sich die Bildkontraste über gewisse Grenzen nicht steigern. Hier liegt eine große Möglichkeit für die MFE, weil an sich schwache Bildkontraste, wenn sie nur überhaupt vorhanden sind, elektronisch verstärkt werden können.

Die eben geschilderten Vorteile der MFE würden allein schon ausreichen, um ihre Verwendung für die verschiedensten Zwecke von Demon-

stration, Unterricht, Routinearbeiten und Forschung sicherzustellen, sei es, daß manche Arbeiten ohne sie einfach nicht durchführbar sind, sei es, daß auch nur einigermaßen Aussicht auf Rentabilität besteht. Die Bemühungen, weitere Vorteile, wie z. B. die Verwendbarkeit der MFE zur Ultraviolett- oder Infrarotmikroskopie auszunützen, sind im Gange.

Unseres Wissens wurden bisher Fernseheinrichtungen in Kombination mit dem Mikroskop nur für biologische Zwecke verwendet, weshalb das aufrechte Mikroskop bevorzugt war. Ich glaube indessen, daß rein apparativ ein großer Fortschritt erzielt werden kann, wenn man mit einem gestürzten Mikroskop arbeitet. Denn in diesem Falle läßt sich die relativ schwere Fernsehkamera (Gewicht bis zu 10 kg) viel bequemer mit dem Mikroskop verbinden. Besonders vorteilhaft ist es dann, das Mikroskop gemeinsam mit der Fernsehkamera auf einer optischen Bank aufzustellen, wie dies Abb. 1 zeigt. Das Mikroskop steht auf einer Grundplatte, auf der rechts und links kurze optische Bänke aufgesetzt sind; die linke trägt eine Hochleistungs-Beleuchtungseinrichtung, die einen raschen Wechsel von Quecksilberdampf-Höchstdrucklampe und Nieder-voltglühlampe erlaubt. Auf der rechten Bank steht, auf Spezialreiter montiert, die Fernsehkamera. Sie ist mit einem Kabel, das unter Umständen mehrere 100 m lang sein darf, mit dem Empfänger verbunden (in Abb. 1 unmittelbar rechts neben der Kamera aufgebaut). Die optische Einrichtung ist schematisch in Abb. 2 skizziert: Das von der Lampe aus der Richtung 1 kommende Licht beleuchtet das auf dem Mikroskop-tisch liegende Präparat 4 über den justierbaren Umlenkspiegel 2 und den Kondensor 3. Zur Abbildung dient das Mikroskopobjektiv 5; normalerweise beobachtet man das Bild durch das Okular 7, über das Umlenkprisma 6. Rückt man dieses aus dem Strahlengang, so erfolgt die Abbildung, anstatt über 6 und 7, über ein anderes Prisma 8 und ein Okular 9. Bekanntlich beobachtet man am Mikroskop mit auf unendlich akkommodiertem Auge, das heißt, alle einen Objektpunkt abbildenden Strahlen verlassen das Okular als Parallelbündel. Um ein reelles Bild des Präparates 4 auf der lichtempfindlichen Schicht 11 der Bildwandlerröhre des Fernsehempfängers 12 zu erhalten, genügt es daher, ein Objektiv 10 zwischen dem Okular 9 und der Schicht 11 so aufzustellen, daß 11 in der hinteren Brennfläche von 10 liegt. (Zieht man auch das Umlenkprisma 8 aus dem Strahlengang, so wird über das Okular 13 und den Umlenkspiegel 14 ein Bild in der Ebene 15 entworfen. Dort ist wahlweise eine Photoplatte oder eine Mattscheibe angeordnet. Die Mattscheibenbeobachtung ist wegen ihrer Übersichtlichkeit sehr häufig der durch das Okular vor-zuziehen.)

Das Kernstück der Fernsehkamera ist eine Bildwandlerröhre von sehr kleinen Dimensionen (Länge: etwa 15 cm, Durchmesser: $2\frac{1}{2}$ cm). Sie wird heute in den verschiedensten Typen ausgeführt, die voneinander sowohl hinsichtlich der Art der Lichtumwandlung als auch hinsichtlich der spektralen Empfindlichkeit abweichen. Grundsätzlich unterscheidet man den Superikonoskop-Typus mit Photokathodenschicht und den Vidikon-Typus mit lichtempfindlicher Halbleiterschicht. Es ist hier nicht der Ort, um auf die Vor- und Nachteile der verschiedenen Typen näher einzugehen. Die Versuche wurden mit im wesentlichen übereinstimmenden Ergebnissen mit einem Pye-Gerät (Pye Ltd., Cambridge, England) und einem Gerät der Deutschen Fernseh-G. m. b. H. (Darmstadt) durchgeführt*. Erstgenannte Kamera arbeitet mit Superikonoskop,

* Den beiden genannten Firmen danke ich für die leihweise Überlassung der Fernseheinrichtungen bestens; ebenfalls zu Dank verpflichtet bin ich der Shandon Scientific Comp., London, für die Beihilfe bei einer Reihe von Versuchen.

letztere mit Vidikon. Das Auflösungsvermögen der Röhren beträgt maximal 625 Zeilen bei einem Durchmesser der lichtempfindlichen Schicht von etwa 16 mm. Die Justierung der ganzen Einrichtung ist überraschend einfach. Sie bleibt auch im Betrieb praktisch unverändert, weil die Einstellung der Fernsehkamera wegen des parallelen Strahlenganges zwischen Mikroskopokular und Kameraobjektiv (9 und 10 in der Abb. 2) nicht kritisch ist. Übrigens kann man auch das Kamera-

objektiv 10 weglassen und das Okular 9 zur Projektion des Bildes auf die lichtempfindliche Schicht 11 direkt verwenden. Diese Anordnung ermöglicht die Variation der Vergrößerung innerhalb weiter Grenzen bloß durch Verschieben der Kamera relativ zum Okular 9. Allerdings leidet dann bei Verwendung starker Mikroskopobjektive die Bildqualität, weil sie unter Verhältnissen benützt werden, für die sie nicht korrigiert wurden. Dieses Verfahren ist deshalb nur für schwächere, nicht so empfindliche Mikroskopobjektive zu empfehlen. Der Kameraausgang ist für den gleichzeitigen Anschluß von mehreren Fernsehempfängern eingerichtet. Das Empfängergerät (Monitor), mit einem Bildschirm von etwa 29×23 cm ausgestattet, ermöglicht dem Benützer durch Betätigung einer Reihe von Kontrollknöpfen eine weitgehende Beeinflussung und Steuerung der Bildqualität, insbesondere der Helligkeit und der Kontraste. Setzt man ein Auflösungsvermögen des menschlichen Auges von rund einer Bogenminute voraus, so ergibt sich aus der oben genannten Zeilenzahl und aus dem Bildschirmformat die Notwendigkeit, das Leuchtschirmbild nicht aus der Nähe, sondern aus einer Entfernung von einigen Metern zu betrachten. Dementsprechend darf die Gesamtvergrößerung der MFE den in der visuellen Mikroskopie üblichen Wert der 1000fachen numerischen Apertur des Objektives (die Grenze der sogenannten förderlichen Vergrößerung) erheblich überschreiten, weil ja auch der Bildabstand viel größer ist als die konventionelle Sehweite. Verstärker, Impulsgenerator, Zeilenabtasteinrichtung usw. sind bei verschiedenen Fabrikaten in unterschiedlichem Ausmaß auf Kammergehäuse und Monitor verteilt. Der Leistungsverbrauch der Fernseheinrichtung ist gering; er beträgt maximal etwa 500 Watt.

Auf der Abb. 1 erkennt man auf dem Empfängerschirm das Bild eines mikroskopischen Objektes, eines gefärbten Blutausstriches. Die Bildkontraste sind ganz hervorragend; die Zeilenstruktur des Bildschirms war bei einer Betrachtungsdistanz von $2\frac{1}{2}$ m vollkommen verschwunden. Um die gewünschten Details aus dieser Distanz noch zu sehen, war der Abbildungsmaßstab 2500:1 gewählt worden, wobei als Objektiv ein Reichert-Achromat 95/0,75 Verwendung fand.

Die Abb. 3 zeigt die MFE für Auflichtuntersuchungen. Auf dem Schirm ist das Bild eines perlitischen Gußeisens bei einer etwa 2000fachen Vergrößerung, unter Verwendung eines Reichert-Achromatobjektives 45/0,65, zu sehen. Sogar in der photographischen Reproduktion erkennt man noch die Strukturdetails sehr gut. Man darf ruhig sagen, daß es aus Lichtmangel ganz unmöglich ist, eine auch nur annähernd so gute Projektion ohne Fernsehaggregat zu erhalten. Und dabei ist es noch ohne weiteres möglich, die gleiche Struktur unter gleichen Bedingungen im Auflichtdunkelfeld zu untersuchen!

Die beiden eben angeführten Beispiele lassen schon die Möglichkeiten erkennen, die in der MFE liegen. Freilich sind die Arbeitsbedingungen etwas andere, als man sie von der normalen Mikroskopie her gewöhnt ist. Z. B. weiß man, daß dort das Zuziehen der Aperturblende des Kondensors im allgemeinen eine Kontraststeigerung ergibt. Das Gegenteil kann in der Fernsehmikroskopie der Fall sein. Denn die Kontraste am Bildschirm lassen sich um so kräftiger herausarbeiten, je größer die Helligkeit des Bildes auf der lichtempfindlichen Schicht der Bildwandlerröhre ist. Das Zuziehen der Aperturblende brächte zwar die von der normalen Mikroskopie her bekannte Kontraststeigerung; diese wird aber durch die Kontrastverminderung durch den Lichtverlust infolge des Blendenschließens meist mehr als wettgemacht.

Wohl die interessanteste Möglichkeit der MFE besteht darin, daß sehr schwache, visuell kaum erkennbare Bildkontraste, wenn sie nur überhaupt vorhanden sind, elektronisch verstärkt werden können. Ein überraschendes Beispiel ist dafür die Untersuchung eines typischen Phasenobjektes, z. B. eines Kristallpräparates, dessen Identifizierung oder Differenzierung auf mikroskopischem Weg erfolgen soll. Handelt es sich um ungefärbte Kristalle, so ist ein Bild, in dem sich die Bestandteile nach Form und Brechkraft kontrastreich vom Untergrund abheben, überhaupt nur mittels der Phasenkontrastmethode erzielbar. Indessen reichen die außerordentlich schwachen Bildkontraste, die man ohne

Phasenkontrastverfahren erreicht, hin, um auf dem Umweg über die elektronische Verstärkung mittels Fernseheinrichtung hervorragende Bilder zu erhalten. Diese Möglichkeit ist vor allem dann von Bedeutung, wenn die Verwendung einer Phasenkontrasteinrichtung aus apparativen Gründen ausgeschlossen ist.

Natürlich wird man bei der Weiterentwicklung des Fernsehmikroskopes nicht an die Empfänger mit relativ kleinem Bildschirm gebunden sein. Die Fernsehindustrie hat bereits Großraumprojektionseinrichtungen gebaut, bei denen mit Hilfe einer lichtstarken Projektionsoptik das Schirmbild der Bildwanderröhre auf einen normalen Projektionsschirm abgebildet wird². Wenn auch die Fragen der Ökonomie noch ernstlich zu bedenken sind, so ist doch der Weg, auf dem höchste Leistung mit größter Bequemlichkeit verbunden werden soll, damit vorgezeichnet. Wenn man bedenkt, in welchem Ausmaß heute die mikroskopischen Methoden in der Metallkunde, in der Chemie, in der Pharmazie und in den Grenzgebieten Eingang gefunden haben, so ist die Ausnützung der modernen Errungenschaften der Elektronik auf diesem Gebiet nur mehr eine Frage der Zeit.

Zusammenfassung.

Der Verfasser zeigt die Möglichkeiten und den Aufbau einer der wichtigsten Neuentwicklungen der letzten Zeit auf dem Gebiet der Mikroskopie, nämlich der Mikrofernseheinrichtung, insbesondere unter Verwendung eines gestürzten Mikroskopes. Die Lösung mancher bisher unlösbarer mikroskopischer Probleme bildet zusammen mit nahezu unbeschränkter Möglichkeit der Mikroprojektion einen beachtlichen Fortschritt.

Summary.

The author shows the possibilities and the development of one of the most important new advances of recent times in the field of microscopy, namely the microtelescopic device, especially with use of an inverted microscope. The solution of numerous hitherto insoluble microscopic problems together with almost limitless possibilities of microprojection represent a very considerable advance.

Literatur.

¹ L. E. Flory, Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 16, 505 (1951). V. K. Zworykin und L. E. Flory, Electrical Engineering 70, 1 (1952). V. K. Zworykin, L. E. Flory und R. E. Shrader, Electronics 1952, 150.

² E. Wallauschek, Philips Technische Z. 1, 26 (1954).

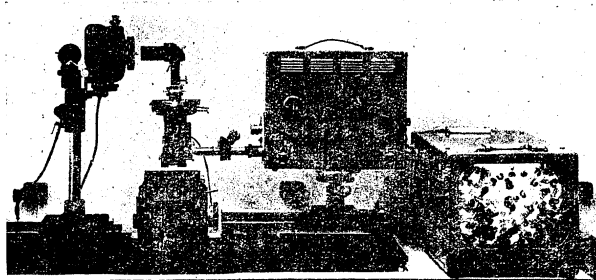


Abb. 1. Mikrofernseheinrichtung in Durchlichtausstattung.
(Reichert-Universal-Kamera-Mikroskop Me F mit Zweilampenaggregat Mercurius und Pye-Fernseheinrichtung.)

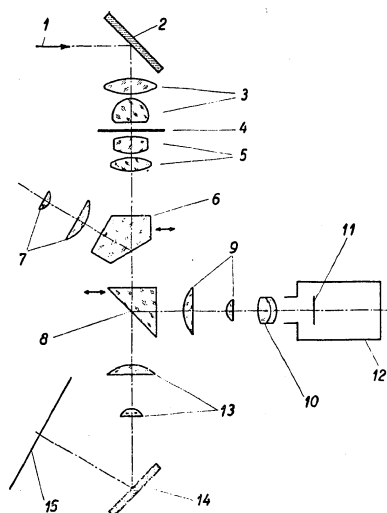


Abb. 2. Schema des optischen Teiles der Mikrofernseheinrichtung (Durchlicht).

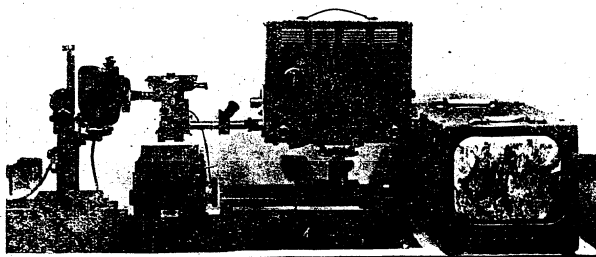


Abb. 3. Mikrofernseheinrichtung in Auflichtausstattung (Grundbestandteile wie in Abb. 1).

Aus dem II. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

Die mikromaßanalytische Bariumsulfatbestimmung.

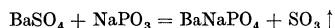
Von

H. Ballezo und G. Doppler.

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 2. Mai 1955).

Nicht selten kommt der Analytiker in die Lage, auch kleinere Mengen Bariumsulfat quantitativ bestimmen zu müssen. Dabei ist oft die Absolutmenge so gering, daß eine direkte Auswaage (weniger als 10 mg) ohne Benützung einer Mikrowaage nur mit geringer Genauigkeit erfolgen kann. Unter 500 μg wird diese Mengenbestimmung jedoch auch mit der Mikrowaage zu ungenau. Dazu kommt noch, daß das Bariumsulfat in vielen Fällen durch Fremdionen verunreinigt ist. So findet man im Bariumsulfat anlässlich einer Sulfat- oder Bariumbestimmung Salze der Alkali- und Erdalkalimetalle ebenso wie solche von dreiwertigen Ionen (Aluminium, Eisen) oder gelegentlich der Bestimmung eines unlöslichen Analysenrückstandes auch unlösliche Metalloxyde und -sulfate. Die genaue Ermittlung des Gewichtes ergibt somit keine richtigen Anhaltspunkte für den wirklichen Gehalt an reinem Bariumsulfat. Es bestand daher das dringende Bedürfnis, eine Aufschlußmethode zu finden, die das Bariumsulfat möglichst direkt ohne Abtrennung eines unlöslichen Schmelzanteiles, wie er ja bei dem üblichen Kaliumnatriumcarbonataufschluß unvermeidlich ist, zu lösen gestattet. Nach genauer Durchforschung aller Möglichkeiten gelang dies tatsächlich durch Verwendung von Natriummetaphosphat als Aufschlußmittel¹. Dieses eignet sich, um das Bariumsulfat in einfacher Weise unter Freisetzung von Schwefeltrioxyd in das Bariumnatriumphosphat umzuwandeln.



Dieser Aufschluß erfolgt bei 1000° C im elektrischen Ofen in wenigen Minuten. Sein Vorteil liegt nicht nur in der direkten Auflösung der Bariumionen (und damit ihrer komplexometrischen Bestimmung), sondern auch sämtlicher als Verunreinigung noch vorhandener Begleit- ione n, die ebenfalls als säurelösliche Phosphate vorliegen. Ohne Aufschluß ist das Bariumsulfat nur äußerst schwer, und zwar auch nur in frisch gefälltem Zustand, also nicht gegläht, und nur mit genügend großem Überschuß an Komplexon III in Lösung zu bringen².

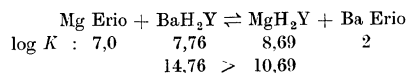
Nach dem Aufschluß hingegen ist das gebildete Bariumnatriumphosphat in wenig Salzsäure leicht löslich und kann mit einem Überschuß an Komplexon-III-Lösung komplex abgebunden werden. Der Überschuß wird hernach mit einer gestellten Magnesiumchloridlösung zurückgemessen. Während man bei der komplexometrischen Bestimmung des Bariumions die Alkaliionen nicht miterfaßt und somit den reinen Bariumwert erhält, ist dies bei Anwesenheit anderer Verunreinigungen nicht mehr der Fall. Doch lassen sich Aluminium sowie auch kleinere Mengen von Eisen und Mangan durch Zugabe von etwas Triäthanolamin³ ohne Nachteil für die Bestimmung des Bariums vorher komplex abbinden. In ähnlicher Weise kann man auch bei Anwesenheit von Blei, Wismut, Antimon oder Zinn diese Metalle durch Zugabe des ausgezeichneten Tarmittels Dimerkaprol⁴, einem 2,3-Dimercaptopropanol, das als BAL (British-Anti-Lewisit) oder Dikaptol bekannt ist, wirksam maskieren. Das Dimerkaprol bildet mit Hg, Cd, Zn, As, Sb, Sn, Pb und Bi in schwach saurer Lösung weiße oder gelb gefärbte Niederschläge, die sich in Ammo-

niak farblos bzw. mit schwach gelber Farbe auflösen. Die so erhaltenen Komplexe sind beständiger als die entsprechenden Metallkomplexonate und können daher bei der komplexometrischen Bariumbestimmung wirksam zur Maskierung dieser Metalle Verwendung finden. Etwas schwieriger gestaltet sich die Aufarbeitung des aufgeschlossenen und durch Strontiumionen verunreinigten Bariumsulfates. Jene würden nämlich mit dem Barium gleichzeitig erfaßt. In diesem Falle muß das Barium nochmals selektiv aus der mit Komplexon versetzten Aufschlußlösung bei einem pH-Wert von 5,5 bis 6 als Sulfat ausgefällt werden. Wie nebenstehende Abbildung darlegt, konnte ermittelt werden, daß von den Sulfaten der Erdalkalien in dem oben genannten pH-Intervall einzig das Bariumsulfat aus der mit Komplexon versetzten Lösung quantitativ ausfällbar ist. Diese Methode liefert vortreffliche Resultate, solange nur ganz geringe Strontiummengen abgetrennt werden müssen.

Wie *R. P. ibil* und *Z. Rouba*⁴ erst kürzlich mitteilten, können durch eine Summenbestimmung aller vorhandenen Kationen sowie durch geeignete Wahl der Maskierungsmittel unter Umständen auch mehrere Verunreinigungen nebeneinander quantitativ erfaßt werden.

Obwohl man heute schon einige direkte komplexometrische Bestimmungsmethoden des Bariumions kennt (*T. J. Manns*⁵ titriert Barium gegen Eriochromschwarz T mit Magnesiumkomplexonatlösung, *R. Sjöderrius*⁶ nach Zusatz einer bestimmten Magnesiumkomplexonmenge ebenfalls gegen Eriochromschwarz T direkt und *G. Schwarzenbach* und Mitarbeiter⁷ verwenden Phthaleinkomplexon als Indikator), konnten wir aus Gründen der Löslichkeit des vorliegenden Bariumnatriumphosphats doch nur eine indirekte Bestimmungsmethode wählen. Die ersten Versuche, das Barium gegen Phthaleinkomplexon mit eingestellter Barium- bzw. Calciumchloridlösung zurückzutitrieren, schlugen wegen des schlechten Endpunktes und des Ausfallens der Erdalkalisalze (30- bis 50%ige alkoholische Lösung!) fehl¹.

Die einzig mögliche Rücktitration des Bariumkomplexonates mit einer genau eingestellten Magnesiumchloridlösung beruht auf der Tatsache der sehr kleinen Komplexbildungskonstanten des Bariums gegenüber Eriochromschwarz T und der äußerst starken Komplexbildung des Magnesiums mit diesem Farbstoff. So ist es unmöglich, das Barium aus seinem einmal gebildeten Komplexonkomplex bei Anwesenheit von Eriochromschwarz T zu verdrängen, obwohl der Magnesiumkomplexonatkomples um praktisch eine Zehnerpotenz stärker ist als der entsprechende Bariumkomplexonatkomples.



Die Reaktion kann nicht ablaufen, da das Produkt der Komplexbildungskonstanten auf der linken Seite um einige Zehnerpotenzen größer ist als das auf der rechten Seite. Dazu kommt noch der Vorteil, daß bei der Rücktitration keine Komplexbildung notwendig ist und der erste Überschuß an Magnesiumionen sofort durch die Bildung des sehr festen Eriochromschwarz-T-Komplexes sichtbar gemacht wird. Deshalb muß auch, zum Unterschied von der direkten Titration, wie sie *T. J. Manns* und Mitarbeiter⁵ empfohlen haben — sie titrierten mit Magnesiumkomplexonat in der Hitze —, nicht erwärmt werden. So erfolgt der Umschlag sehr scharf und rasch und ist auch noch im Bereiche sehr verdünnter Lösungen (0,001-m) gut zu erkennen.

Er wurde von uns¹ noch insofern verbessert, als wir durch Zusatz von Tropäolin 00, das wir im Gewichtsverhältnis 1 : 2 mit Eriochromschwarz T vermischten, einen visuell viel besser wahrnehmbaren Umschlag von blaugrün über ein reines Grau nach Rot erhielten. Der Indikator wurde nach dem bewährten Vorschlag von *Flaschka*⁸ in fester Form durch Verdünnen mit der 500fachen Menge festen Natriumchlorids bereitet. Von dieser Mischung wurden je Titration, das ist für je 25 ml Titrationsvolumen, ca. 30 mg zugesetzt.

Nach genauen Vorversuchen sind für eine Menge bis zu 5 mg Bariumsulfat 100 mg Natriummetaphosphat bei einer Glühdauer von höchstens

15 Minuten (1000° C) zum vollständigen Aufschluß ausreichend. Die erhaltene Schmelze muß noch zweimal unter Zugabe von wenig verdünnter Salzsäure am Mikrowasserbad zur Trockene verdampft werden, um die noch vorhandenen Metaphosphationen, die den Umschlag beeinträchtigen oder sogar vollständig verhindern können, in das für die nachfolgende Titration völlig unschädliche Orthophosphation zu überführen. Die überschüssige Salzsäure sowie das entstandene Natrium-dihydrogenorthophosphat werden unter Zusatz einer genau bekannten Komplexon-III-Lösung und etwa 30 mg des neuen festen Mischindikators mit konzentriertem Ammoniak tropfenweise von rot nach blaugrün alkalisiert. Nach Zugabe von 1 ml Pufferlösung (Ammoniumchlorid-Ammoniak-Puffer für $pH = 10$)⁹ wird hierauf das überschüssige Komplexon mit 0,01- bzw. 0,001-m Magnesiumchloridlösung in der Kälte zurücktitriert. Dabei wird nach den Regeln der Doppeltitration¹⁰ die gleiche Zusatzmenge an Komplexon-III-Lösung unter den gleichen Bedingungen wie bei der Hauptprobe mit der Magnesiumchloridmaßlösung auf den gleichen Grau- bzw. Rotton titriert, wodurch der Indikatorfehler praktisch ausgeschaltet wird (vgl. Tabelle 1).

Tabelle 1. Komplexometrische Bariumbestimmung durch Rücktitration¹.

Versuch-Nr.	ml Verbrauch an 0,01-m* $MgCl_2$ -Lösung			mg Barium		Fehler	
	V_1	V_2	$V_1 - V_2$	gegeben	gefunden	in mg	in %
38	6,048	4,650	1,398	1,976	1,981	+ 0,005	+ 0,25
44	6,055	4,660	1,395	1,976	1,977	+ 0,001	+ 0,05
62	3,040	1,648	1,392	1,976	1,973	- 0,003	- 0,15
43	3,040	2,343	0,697	0,988	0,988	± 0,000	± 0,00
61	3,040	2,340	0,700	0,988	0,992	+ 0,004	+ 0,41
42	3,040	2,763	0,277	0,395	0,393	- 0,002	- 0,51
16	5,038	4,821	0,217	0,293	0,295	+ 0,002	+ 0,68
35	3,032	2,892	0,140	0,198	0,199	+ 0,001	+ 0,51
69*	9,65	8,30	1,35	0,198	0,200	+ 0,002	+ 1,01
67*	9,65	8,95	0,70	0,1027	0,1035	+ 0,0008	+ 0,78
68*	9,65	8,98	0,67	0,1027	0,0990	- 0,0037	- 3,60
75*	9,62	8,90	0,72	0,1027	0,1065	+ 0,0038	+ 3,70
76*	9,62	8,92	0,70	0,1027	0,1035	+ 0,0008	+ 0,78
65*	9,65	9,30	0,35	0,0514	0,0517	+ 0,0003	+ 0,58
66*	9,65	9,29	0,36	0,0514	0,0532	+ 0,0018	+ 3,50

* Als Titrator wurde eine durch Doppeltitration gestellte 0,01-m bzw. bei den mit + bezeichneten Versuchen 0,001-m $MgCl_2$ -Lösung verwendet. Das Titrationvolumen betrug 25 bis 30 ml.

Das Natriummetaphosphat wurde vorher durch Erhitzen eines analysenreinen Natriumammoniumhydrogenorthophosphats auf 1000° C im Platintiegel im Elektroofen bereitet, nach dem Abschrecken pulverisiert und im Exsikkator gut verschlossen aufbewahrt.

Eine Anwendung dieses maßanalytischen Bestimmungsverfahrens ergab sich anlässlich der Bariumspurenbestimmung im Badener Mineralwasser (Josefsbadquelle) (vgl. Tabelle 2).

Tabelle 2. Analyse der Badener Josefsbadquelle. Komplexometrische Bariumbestimmung (Bariumsulfat).

Nr.	Angewendete Wassermenge ml	ml Verbrauch an 0,001-m $MgCl_2$ -Lösung			Barium gefunden $\mu g/l$
		V_1	V_2	$V_1 - V_2$	
1	2927,1	10,250	8,981	1,269	59,6
2	2000,0	10,250	9,388	0,862	57,8

Dabei wurde erstmalig versucht, die geringen Bariummengen ohne vorhergehende Anreicherung an einer alkalisch vorbehandelten Aluminiumoxydsäule an der Spezialaluminiumoxydsäule¹¹, wie sie durch Behandeln von standardisiertem Aluminiumoxyd mit 0,1-n Salpetersäure leicht zu erhalten ist, direkt festzuhalten. Genaue diesbezügliche Vorunter-

suchungen ergaben, daß außer den Bariumionen und einer Spur Eisen keine anderen Ionen an dieser Säule haften bleiben. Magnesium kann bis zu einer Konzentration von 100 $\mu\text{g/ml}$, Strontium bis zu einer solchen von 200 $\mu\text{g/ml}$ und Calcium bis zu einer Konzentration von rund 150 $\mu\text{g/ml}$ gleichzeitig vorhanden sein, ohne an der Säule zurückgehalten zu werden. Diese Konzentrationsgrenzen sind nun tatsächlich in den meisten Fällen bis auf die Konzentration der Calciumionen nicht überschritten, so daß sich im salpetersauren Eluat neben Barium noch geringe Mengen an Calcium, Aluminium und an Alkalimetallionen neben einer Spur Eisen vorfinden. Will man nun das Bariumion nicht durch konzentrierte Salpetersäure¹¹ ($d = 1,450$) oder, was bedeutend bequemer ist, durch Eisessig¹² von den übrigen Ionen abtrennen, so ist man durch die Anwesenheit der Calciumionen gezwungen, das Barium am besten als Sulfat bei Anwesenheit von Komplexon (wenige ml 0,1-m) in der Hitze mit verdünnter Schwefelsäure auszufällen. Das nach dem Filtrieren und Waschen mit verdünnter schwefelsaurer (0,1-n) Komplexonlösung (0,01-m) — ein nochmaliges Eindampfen mit konzentrierter Schwefelsäure und darauffolgendes kurzes Glühen ist nicht unbedingt erforderlich — erhaltene Bariumsulfat wird mit wenig Natriummetaphosphat 15 Minuten bei 1000° C geglüht, mit Salzsäure (10 ml 1-n) aufgenommen und zweimal auf dem Wasserbad zur Trockene gedampft. Nach dem Überspülen in das Titrationsgefäß und dem Zusatz einer genau abgemessenen Menge Komplexon-III-Lösung sowie etwa 30 mg Mischindikator¹ wird diese Lösung mit konzentriertem Ammoniak von rot nach blaugrün gebracht (alkalisiert), mit 1 ml Pufferlösung ($\text{pH} = 10$) sowie einigen Tropfen Triäthanolamin (zur Tarnung etwa noch mitgefällter Verunreinigungen) versetzt und mit der 0,001-m Magnesiumchloridlösung auf den ersten Grauton zurücktitriert.

Diese Methode erlaubt noch die Erfassung von rund 60 μg Barium mit einem maximalen Relativfehler von $\pm 3\%$, während die sonst mögliche oxydimetrische Bestimmung des Bariums als Chromat (Rücktitration des Überschusses an Eisen(II)ionen in perchlorsaurer Lösung mit 0,01-n Kaliumpermanganatlösung gegen Ferroin) nur etwa die zehnfache Menge an Barium bei gleicher Genauigkeit zu erfassen gestattet.

Zusammenfassung.

Durch ein einfaches Aufschlußverfahren mit Natriummetaphosphat gelang es nicht nur, die für die Bestimmung des Bariumions beste Bestimmungsform des Bariumsulfats auch in kleinsten, nicht mehr genau genug wägbaren Mengen maßanalytisch (Komplexon III) durch Rücktitration mittels einer genau eingestellten Magnesiumchloridlösung zu erfassen, sondern darüber hinaus durch komplexe Abbindung von Fremdionen auch verunreinigtes Bariumsulfat genau zu analysieren.

Die Bestimmung des Bariums erfolgt nach Abbindung mit Komplexon III und Rücktitration mit 0,01- bzw. 0,001-m Magnesiumchloridlösung gegen einen verbesserten Mischindikator, der, durch Zusatz von Tropaeolin 00 zu Eriochromschwarz T erhalten und in fester Form zugesetzt, einen scharfen Umschlag von grün auf rot erzeugt.

Dieses Verfahren wurde am Beispiel einer Bariumbestimmung in der Badener Josefsbadquelle erprobt. Dabei wurde erstmalig die direkte Anreicherung von Bariumspuren an einer mit 0,1-n Salpetersäure vorbehandelten Aluminiumoxydsäule mit Erfolg angewandt.

Summary.

A simple decomposition process by means of sodium phosphate made possible the titrimetric determination of quantities of barium sulfate which are too small to be weighed accurately. Complexone III is used and the back titration is made with an accurately standardized solution of magnesium chloride. Furthermore, this procedure permits the accurate analysis of barium sulfate by complex binding of the impurities.

The determination of barium follows after complexing with complexone III and back titrating with 0.01 or 0.001 M magnesium chloride solution in the presence of an improved indicator. The latter is prepared by adding tropaeolin 00 to eriochrome black T. It is added in solid form, and gives a sharp change from green to red.

This procedure was tested on a sample of water from the Baden Josefsbad.

quelle. For the first time, the direct accumulation of traces of barium on a column of alumina (pretreated with 0.1 N nitric acid) was used with success.

Literatur.

- ¹ H. Balczó und G. Doppler, *Mikrochim. Acta* [Wien] **1954**, 403.
- ² W. M. Budde und S. J. Potempa, *Analyt. Chemistry* **22**, 1072 (1950).
- ³ R. Přibil, *Coll. Czechoslov. Chem. Commun.* **19**, 58, 465 (1954).
- ⁴ R. Přibil und Z. Roubal, *Coll. Czechoslov. Chem. Commun.* **19**, 1162 (1954).
- ⁵ T. J. Manns, M. U. Reschowsky und A. J. Certa, *Analyt. Chemistry* **24**, 908 (1952).
- ⁶ R. Sijderius, *Analyt. Chim. Acta* **10**, 517 (1954).
- ⁷ G. Anderegg, H. Flaschka, R. Sallmann und G. Schwarzenbach, *Helv. Chim. Acta* **37**, 113 (1954).
- ⁸ H. Flaschka und W. Schöninger, *Z. analyt. Chem.* **133**, 321 (1951).
- ⁹ G. Schwarzenbach und H. Flaschka, *Titrationen mit Hilfe von Komplexonen*. B. Siegfried A. G., Zofingen, Schweiz. H. Flaschka, *Österr. Chem.-Ztg.* **54**, 234 (1953).
- ¹⁰ H. Balczó, *Z. analyt. Chem.* **134**, 321 (1951).
- ¹¹ H. Balczó und H. Muthenthaler, *Mikrochem.* **39**, 152 (1952). H. Balczó und W. Schenk, *Mikrochim. Acta* [Wien] **1954**, 163.
- ¹² G. Doppler, *Dissertation*, Wien 1955; vgl. B. Sansoni, *Angew. Chem.* **66**, 342 (1954).

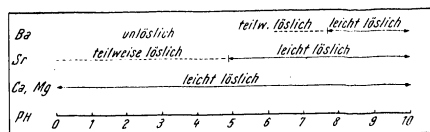


Abb. 1. Löslichkeit der Erdalkalisulfate in Komplexonen.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/62.

Zeilenanzahl: 203.

Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, University of Stockholm,
Sweden.

Investigation of Monoterpenes by Micro Displacement Adsorption.

By

Sven-Gösta Blohm* and Gunnar Widmark.

With 6 Figures.

(Received April 25, 1955.)

The main principles of a new micro technique for the analysis of liquids were presented by Blohm¹ at the Graz Congress 1950. The method is based on displacement adsorption** and is a micro adaptation of an

* Present address: Allergy Research Laboratory Department of Dermatology, Karolinska Sjukhuset, Stockholm, Sweden.

** In what follows the name sorption will be used.

earlier known macro method which has been described by Mair². On analysis, the liquid sample is introduced into the top of a sorption column and is displaced through the column by another liquid which is more strongly sorbed by the packing material (the sorbent) of the column than any of the components of the liquid sample. The components are sorbed according to their affinity for the sorbent and will leave the bottom of the column undiluted in a succession which is in the reverse order of their affinities. Using this micro method¹ which has been elaborated further by Blohm³ measured equal volumes of the outflowing liquid are collected in a set of capillary pipettes and the refractive indices of these fractions are determined using a simple micro technique⁴. Plotting the refractive indices against the fraction number of the displaced sample a sorptiogram is obtained which will give a picture of the homogeneity of the liquid analysed.

In order to standardize the analytical method and to give a wide interpretation of the sorptiogram we recommend that the method should be carried out on the scale described below which was first used by Blohm³ and later by the other author of the present paper⁵.—Using nitrogen pressure from a cylinder 40.0 μ l of the liquid test sample are displaced by abs. ethanol (commercial 99.6%) through a column (250 mm high, inner diameter 1.4 mm) filled with Davison Silica Gel (22-08-x 1926, through 200 mesh, activated for two hours at 140° C). At the bottom of the column the displaced sample is collected in 5.0 μ l fractions, an operation which is simply performed by the aid of a set of sliding capillaries.—Theoretically eight undiluted 5 μ l fractions would be expected, but naturally in practice not more than seven fractions are uncontaminated by the displacing liquid. The sorptograms formed by these seven fractions either can be represented diagrammatically or, as proposed by Widmark⁵, the n_D^{25} values can be given with the fraction number as index, e. g. index homogeneous α -pinene, 1.4632_{US, 1-7} where US means the unsorbed sample.

From a practical point of view the micromethod is excellent. The apparatus is very simple and can be prepared by any glass blower*.

* A completely standardized apparatus can be obtained from Grave Ltd, Malmkillnadsgatan 48 C, Stockholm C, Sweden.

The only instrument required is an ordinary Abbe-type-refractometer (accuracy ± 0.0001) which is supplied with circulating water from a thermostat ($\pm 0.02^\circ$ C). Furthermore, the micro method is rapid and easily handed. A total analysis of a liquid, e. g. a mixture of the less viscous liquid terpene hydrocarbons, can be performed within 20 minute

after some training.

The range of usefulness of the method has been stated by *Blohm*³ to include liquids in the fields of the lower homologues of hydrocarbons, chlorinated hydrocarbons, acetates and terpene hydrocarbons. Later investigations by the present authors demonstrate clearly the advantages of the micro method when dealing with problems involving the terpene hydrocarbons.

The essential conditions for a liquid to be suitable for analysis by means of this method are difficult to define, as may be seen from the theoretical discussion below.—However, the following directions may serve as a guide. The liquid must have a lower affinity for the silica gel than ethanol (less hydrophilic), must not be too viscous and must have a boiling point above about 40° C for an uncooled column. The refractive indices of the components investigated and the displacer must be separable within the accuracy of the refractometer. Furthermore, the liquid must not undergo chemical reaction during the passage through the column. On analysing sensitive liquids the advantages of the micro scale is obvious and up to now* we have not observed any isomerization when analysing the terpene hydrocarbons.

The micro method has been used^{6,10} in research on the nature of the dermatologically active components which are found in commercial turpentine. A necessary condition for all dermatological investigations, where small amounts can cause reaction on sensitive skin, has been that the work should be carried out with pure compounds and the micro method has been found to be a valuable tool. It has also been found possible to separate oxidized terpenes into eczematogenically active and inactive fractions with this micro method⁶.

Theoretical discussion.

If the liquids *A* and *B* are in contact with a sorbent, such as silica gel, two things can happen, assuming sorption stabilities of the liquids. Either one component is preferentially sorbed over the whole concentration range or only over a section. This can be shown in a diagram with concentration on the *y*-axis and amount of preferentially sorbed liquid per amount sorbent on the *x*-axis. A *U*- or an *S*-shaped isotherm will be obtained (Fig. 1*a* and Fig. 2*a*). The form of the isotherm depends on the nature of *A*, *B*, and sorbent, and on the temperature. It can vary from extreme *U*- to extreme *S*-form. Many examples are given by *Bartell* et al.^{7,8}

The separating properties of the sorbent can be used more effectively by displacing a liquid through a sorption column than by ordinary percolation or by simple contact with the sorbent. The difference between these methods is that the ratio of sample to sorbent can be brought to a much higher figure by the displacement technique than by the others.

Displacement sorption of a binary mixture belonging to the *U*-isotherm group will give complete separation of the component over the whole concentration range (assuming the separation effect of the column to be optimal) (Fig. 1*b*, *c*, *d*). If the mixture belongs to the *S*-isotherm group the result of the analysis depends on the initial proportions of the components in the mixture. Between 1 and 2 in Fig. 2*a*, pure *B* but not pure *A* will be obtained. Instead, a mixture which is not separable, and which corresponds to point 2 in Fig. 2*a* is obtained. The opposite result is obtained if the initial mixture lies between 2 and 3 in Fig. 2*a*. (See Fig. 2*d*). The result which is obtained if the mixture corresponds to point 2 in Fig. 2*a* is independent of the efficiency of the column. No separation, Fig. 2*c*, will appear and the sorptiogram will show a constant refractive index level. The parallelism between this phenomenon and azeotropes in distillation is obvious; however, the former is not so well-known. For practical work information about the isotherms is necessary as index homogeneity throughout the samples does not always imply purity.

In a comprehensive study of the system petroleum hydrocarbons — silica gel, *Hirschler* and *Amon*⁹ have found that *S*-isotherms are common and it is largely from their investigation that the above schematic principles

are collected.

In the field of terpenes, the isotherms have been studied insufficiently and special care must be taken on the interpretation of multicomponent mixtures. Another limiting factor in the case of terpenes would be the chemical reactions caused by the sorbent (gel) of the analytical column, but up to now no such phenomena have been observed—see below and (3). However, it is likely that the components which are formed in the autoxidation of Δ^3 -carene are decomposed partly on passage through the analytical column. Although, in the analytical column, it is possible to concentrate the eczematogenically active material, this is destroyed on a macro scale (3 ml sample), as was demonstrated by a clinical test¹⁰.

Examples in terpene analysis.

In a series of investigations the authors have studied some terpene hydrocarbons where the homogeneity or change in homogeneity has been examined using the micro method. Some examples from these investigations are given below.

Checking of the purification procedure^{5, 10, 13}.

A commercial sample of Δ^3 -carene (Bergvik & Ala) was purified using a sodium method⁶ and the sorptiogram Fig. 3a was obtained. 0.2 ml of the purified sample was displaced through a column 200 × 3.6 mm and fractions with constant refractive index level were collected. This combined sample had the same refractive index as the sorptiogram obtained by the analytical micro column, Fig. 3b.

Sorptiograms of terpene mixtures¹¹.

Sorptiograms of some binary mixtures of Δ^3 -carene, α -pinene and β -pinene are given in Fig. 4. Within the experimental conditions α -pinene and Δ^3 -carene are found to belong to the *U*-isotherm group, Δ^3 -carene being sorbed preferentially. The same holds for α -pinene and β -pinene where β -pinene is sorbed preferentially. Δ^3 -carene and β -pinene are inseparable at low β -pinene concentrations and this binary system seems to belong to the *S*-isotherm group. The sequence for 50% concentration is Δ^3 -carene, β -pinene and α -pinene.

Oxidation¹².

On oxidizing pure Δ^3 -carene a small amount of consumed oxygen gives rise to a marked "peak" at the end of the sorptiogram, Fig. 5. It is of interest to notice that the dermatological effect is confined to the peak of the micro-sorption.

Examination of commercial samples¹¹.

Fig. 6 gives the sorptiograms of some commercial samples of *d*-limonene and dipentene. In pure form these terpenes both have their n_D^{25} level at 1.4703¹³. No direct conclusion regarding the general qualities of the samples must be drawn from these sorptiograms, as it is not known how the samples have been handled at the dealers.

The investigation has been supported by the Swedish Medical Research Council.

Summary.

In the investigation of monoterpenes a micromethod based on displacement adsorption has been used. The theoretical background of the adsorption method has been discussed and examples are given where the micromethod has been used to investigate homogeneity or change in homogeneity.

Zusammenfassung.

Für die Untersuchung von Monoterpenen wurde eine auf Verdrängungsadsorption beruhende Mikromethode verwendet. Die theoretischen Grundlagen dieser Adsorptionsmethode werden erörtert und Beispiele für ihre Anwendung bei der Untersuchung der Homogenität bzw. deren Veränderung angeführt.

References.

- ¹ S.-G. Blohm, Mikrochem. **86/87**, 322 (1950).
- ² B. J. Mair, J. Res. Nat. Bur. Stand. **84**, 435 (1945).
- ³ S.-G. Blohm, Ark. Kemi **B 6**, No. 30, 317 (1953).
- ⁴ S.-G. Blohm, Acta Chem. Scand. **4**, 1495 (1950).
- ⁵ G. Widmark, Acta Chem. Scand. **9** (1955). In press.
- ⁶ S. Hellerström, N. Thyresson, S.-G. Blohm, and G. Widmark, Acta Dermato-Venerol. **33**, 51 (1953).
- ⁷ F. E. Bartell and G. H. Scheffer, J. Amer. Chem. Soc. **53**, 2507 (1931).
- ⁸ F. E. Bartell and C. K. Sloan, J. Amer. Chem. Soc. **51**, 1643 (1929).
- ⁹ A. E. Hirschler and S. Amon, Ind. Eng. Chem., **39**, 1585 (1947).
- ¹⁰ S. Hellerström, N. Thyresson, S.-G. Blohm, and G. Widmark, J. Invest. Dermat. **24**, 217 (1955).
- ¹¹ G. Widmark and S.-G. Blohm, Acta Chem. Scand. **9** (1955). In press.
- ¹² S.-G. Blohm and G. Widmark, Acta Chem. Scand. **9** (1955). In press.
- ¹³ G. Widmark, Acta Chem. Scand. **9** (1955). In press.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/63.

Zeilenanzahl: 99.

Aus dem Pharmakognostischen Institut der Universität Innsbruck.

Phasenkontrastmikroskopische Studien zum Kristallwachstum.

Von

M. Brandstätter.

Mit 9 Abbildungen.

(Eingelangt am 4. Mai 1955.)

Nach der klassischen Theorie für das Kristallwachstum, die von *Volmer*¹, *Kossel*² und *Stranski*³ entwickelt wurde, erfolgt das Weiterwachsen auf einer bereits vorhandenen Kristallfläche in der Art, daß sich die Moleküle bzw. Atome schichtenweise übereinanderlegen (Abb. 1). Zum Beginn einer neuen Schicht ist eine größere Übersättigung des Dampfes bzw. der Lösung notwendig als zum Auffüllen einer bereits begonnenen Schicht, da ein neuer Keim gebildet werden muß. Somit kann ein Kristall nur dann wachsen, wenn die für die Keimbildung erforderliche Übersättigung erreicht ist. Sie beträgt mindestens 25%. Entgegen dieser Voraussage gelang es *Volmer* und *Schulze*⁴ 1931, Jodkristalle aus nur 1% übersättigtem Dampf weiterwachsen zu lassen. Diese ungewöhnlich große Diskrepanz zwischen Berechnung und Experiment gab Anlaß zu neuen Untersuchungen und 1949 gelang es *Frank*⁵ in einem neuen Modell, das anstelle des schichtenweisen Wachstums mit immer neuer Keimbildung für jede Schicht kontinuierliches Wachsen in Form einer Spirale setzt, eine Erklärung dafür zu geben. *Frank* nimmt an, daß die Kristalle Schraubenversetzungen enthalten. Darunter versteht man einen besonderen Typ von Störungen im Kristallgitter, der zur Stufenbildung an der Kristalloberfläche führt (Abb. 2). An einer derartigen offenen Stufe nun können sich die neuankommenden Moleküle festsetzen, ohne daß Keimbildung notwendig wäre. Das Weiterwachsen auf einer Schraubenversetzung führt zur Ausbildung eines spiraligen Wachstumshügels (Abb. 3).

Franks Vorstellungen fanden ihre Bestätigung durch die Auffindung von Wachstumsspiralen auf zahlreichen Kristallen verschiedenster Stoffe. Wir haben nun vor einigen Jahren in den organischen Verbindungen ein Material gefunden, das sich in besonderem Maße dazu eignet, die von *Frank* gemachten Voraussagen über das Spiralwachstum zu demonstrieren⁶. Organische Stoffe sind vielfach bei leicht zugänglichen Temperaturen zu verdampfen und sie bilden bei der Sublimation auf ein Deckglas bevorzugt Kristalle mit plattenartigem Habitus aus, die für das Studium des Spiralwachstums besonders geeignet sind. Die Ursache dafür, daß vor allem flächenhaft ausgebreitete Kristalle Spiralwachstum zeigen, sieht *Frank* darin, daß bei dünnen Kristallen, wenn sie eine bestimmte Größe überschreiten, Spannungen auftreten, die zur spontanen Bildung von Versetzungen führen.

Mikroskopisch sichtbare Spiralen sind nach *Frank* auf Versetzungen von vielfacher Stärke gewachsen. Darunter sind Gruppen von Versetzungen zu verstehen, die sehr nahe beisammen sind und den gleichen Drehsinn besitzen. Abb. 4 zeigt eine vierschichtige Stufe, die von vier Versetzungen gebildet wird. Die Spiralen die bei unseren Untersuchungen auftreten, müssen ausschließlich auf großen Versetzungsgruppen wachsen, da die Stufen von einigen hundert bis zu einigen tausend Å hoch sind. Es kommt dabei auch häufig vor, daß sich aus einer ursprünglich einheitlich erscheinenden Spirale dünne Schichten ablösen, die ganz schnell zum Rand der nächsten Stufe wachsen, ein Beweis für die zusammen-

gesetzte Natur der Spiralen. Prinzipiell ist das Verhalten dieser vielschichtigen Spiralen den Elementarspiralen analog.

Das Wachsen einer einzelnen Spirale geht nun in der Weise vor sich, daß sich das zentrale Ende kontinuierlich nach innen windet unter Bildung immer neuer Stufen, während der gesamte Spiralrand nach außen wächst (Abb. 5). Zwei Spiralen, die nach der gleichen Richtung drehen, können bei entsprechendem Abstand eine Doppelspirale bilden. Auf Abb. 6 sind zwei etwa gleichstarke Spiralen zu sehen, die regelmäßig ineinander wachsen. Ist der Drehsinn der beiden Spiralen entgegengesetzt, so bilden sie geschlossene Lamellen (Abb. 7).

Bei unseren Untersuchungen haben wir auch Lamellenwachstum beobachtet (Abb. 8), an dem die zwei Ursprungsspiralen nicht zu sehen waren, so daß der Eindruck von freier Keimbildung erweckt wird. Es darf wohl angenommen werden, daß in diesem Sonderfall das zentrale Spiralenpaar unterhalb der Erfassungsgrenze der Phasenkontrastmikroskopie liegt, die Lamellen aber auf dieselbe Weise gebildet werden wie das Modell der Abb. 7 zeigt. Dasselbe gilt für die Teilkegel, die ebenfalls auf Abb. 8 zu sehen sind. Sie treten an Korngrenzen und defekten Stellen auf, an denen von vornherein größere Ansammlungen von Versetzungen zu erwarten sind. Durch das Zusammenwirken von zwei Versetzungen mit verschiedenem Drehsinn läßt sich auch dieses Wachstumsmuster erklären (Abb. 9).

Zusammenfassung.

Bei der Sublimation organischer Stoffe unter dem Mikroskop wurden Wachstumsfiguren beobachtet, die geeignet sind, zur Demonstration der von Frank 1949 aufgestellten Theorie über das Spiralwachstum der Kristalle zu dienen. Durch Verwendung eines Phasenkontrastmikroskops kann der Wachstumsvorgang verschiedener Spiralförmigen und Wachstumsmuster an Hand bei gewöhnlicher Beleuchtung kaum sichtbarer Spiralstufen mit außerordentlicher Deutlichkeit verfolgt werden.

Literatur.

- ¹ M. Volmer, Kinetik der Phasenbildung. Leipzig: Steinkopff. 1935.
- ² W. Kossel, Nachr. Ges. Wiss. Göttingen 1927, 135.
- ³ J. N. Stranski, Z. physik. Chem. 136, 259 (1928).
- ⁴ M. Volmer und W. Schultze, Z. physik. Chem. (A) 156, 1 (1931).
- ⁵ W. K. Burton, N. Cabrera und F. C. Frank, Nature 163, 398 (1949).
- ⁶ F. C. Frank, Z. Elektrochem. 56, 429 (1952).
- ⁷ M. Brandstätter, Z. Elektrochem. 56, 968 (1952); 57, 438 (1953); Mikroskopie, im Druck.

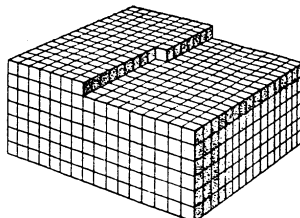


Abb. 1. Idealkristall.

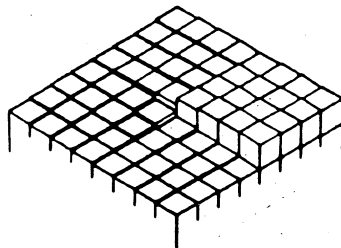


Abb. 2. Schraubenversetzung (nach Frank).

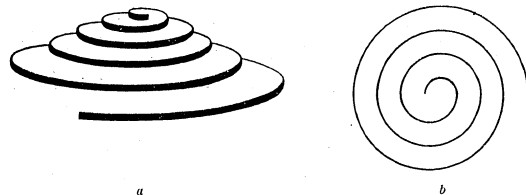


Abb. 3. Wachstumsspirale.

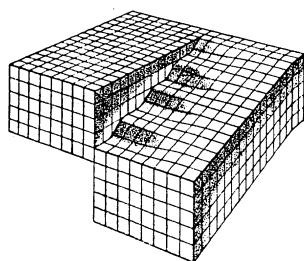


Abb. 4. Vierfache Schraubenversetzung (nach Fullman).



Abb. 5. Spirale auf Diphenylamin.

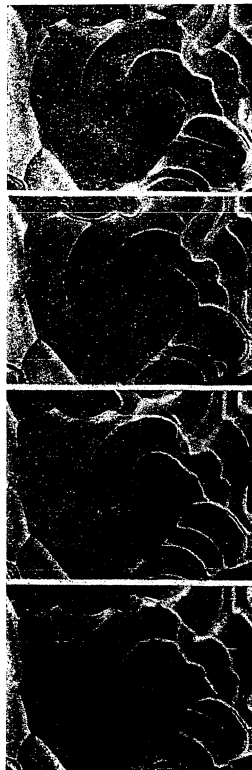


Abb. 6. Doppelspirale auf Phenanthren.

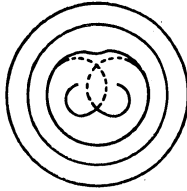


Abb. 7. Lamellenbildung.

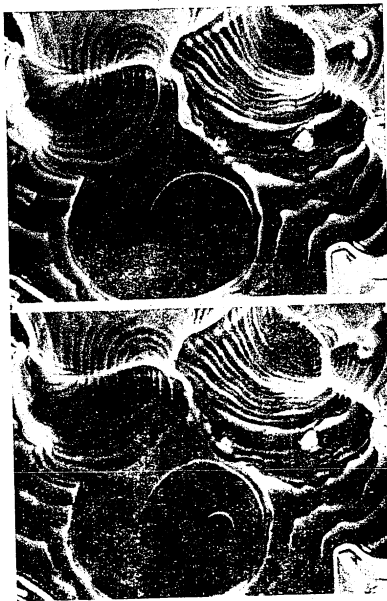


Abb. 8. Scheinbar freie Lamellenbildung auf Borneol.

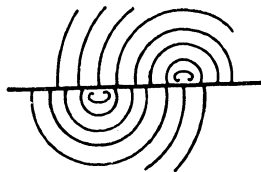


Abb. 9. Lamellenbildung an Korngrenzen.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/64.

Zeilenanzahl: 633.

Max-Planck-Institut für Chemie, Mainz.

Anwendung der Radioaktivität in der analytischen Chemie.

Von
Hans Götte.

Mit 2 Abbildungen.

(Eingelangt am 9. Mai 1955.)

Als im Jahre 1913 *Hevesy* und *Paneth* das RaD, ein natürlich radioaktives Bleisotop, als Radio-Indikator benutzten, um die Löslichkeit des Bleisulfids in Wasser zu bestimmen, wurde in die analytische Chemie eine neue Methode eingeführt, deren Bedeutung man damals nicht absehen konnte, da um diese Zeit nur wenige radioaktive Isotope der letzten Elemente des Periodischen Systems für das Verfahren geeignet waren. 1934 entdeckte dann *Joliot-Curie* die künstliche Radioaktivität und wenig später fand *Fermi*, daß es möglich war, Neutronen an Atomkerne anzulagern und so radioaktive Isotope fast aller Elemente herzustellen. Damit wurden die Grenzen der Methode erweitert und diese auf fast das gesamte Periodische System ausgedehnt. Dennoch konnten sich die radioaktiven Atomarten in die analytische Chemie nicht einbürgern. Sie ließen sich nur mit einem Cyclotron oder einem Hochspannungsgenerator bzw. mit Radium-Beryllium-Quellen an wenigen Plätzen und nur in beschränktem Maße erzeugen, so daß nur sehr vereinzelt analytische Probleme mit ihrer Hilfe zu lösen waren. Erst als die von *Hahn* und *Straßmann* 1939 aufgefundene Uranspaltung dazu führte, daß Uranreaktoren aufgestellt wurden, konnten radioaktive Atomarten in so großem Umfang erzeugt werden, daß sie heute jedem Chemiker zugänglich sind.

Das von *Hevesy* und *Paneth* eingeführte Verfahren beruht darauf, daß sich radioaktive und stabile Isotope eines Elements chemisch gleich verhalten, wenn sie in chemisch gleicher Form vorliegen. Die beiden Atomarten eines solchen Gemisches, das man als markierte Substanz bezeichnet, entmischen sich daher nicht, wenn sie an einer chemischen Reaktion teilnehmen, und damit wird die von den radioaktiven Atomen ausgesandte Strahlenmenge ein Maß für die Menge der so gekennzeichneten Mischung.

Mit Hilfe geeigneter Meßinstrumente (Geiger-Müller-Zähler, Szintillationszähler, Ionisationskammer) oder der Photoplatte lassen sich nun die radioaktiven Atome an Hand der von ihnen emittierten Strahlung nachweisen, und es ist so möglich, auf die Menge des gemessenen markierten Stoffes zu schließen. Man spricht daher auch von radiometrischem Verfahren oder radiometrischer Analyse, wenn nach der Radio-Indikatorenmethode gearbeitet wird.

1. Das Analysenverfahren nach *Hevesy* und *Paneth*.

Es gibt drei Verfahren, um auf dieser Basis quantitative Analysen durchzuführen: Die Aktivierungsanalyse, das Radio-Indikatoren-Verdünnungsverfahren und ein weiteres, für das ein die Methode kennzeichnender Name fehlt. Nach dieser letztgenannten Methode wurde jedoch die anfangs erwähnte erste quantitative Analyse von *Hevesy* und *Paneth* durchgeführt¹. Sie soll daher im folgenden als *Hevesy-Paneth-Analyse* bezeichnet und zuerst behandelt werden.

Die *Hevesy-Paneth-Analyse* beruht darauf, daß bei radioaktiv markierten Substanzen, deren Gehalt an Markierungsisotopen je Gewichtseinheit gleich ist, vergleichbare Meßbedingungen vorausgesetzt, Propor-

tionalität zwischen Menge und im Meßgerät festgestellter Radioaktivität besteht. An Stelle der sonst in der Chemie üblichen Meßmethoden, wie Wägung in der Gravimetrie, Volumenmessung in der Gasanalyse oder bei der Titration, Lichtintensitätsmessung bei der Kolorimetrie, tritt also hier die Strahlenmessung. Dabei ist es nicht unbedingt erforderlich, die absolute spezifische Aktivität zu kennen, mit anderen Worten die Anzahl der je Gewichtseinheit vorhandenen Millicurie, sondern es genügt die Kenntnis der relativen spezifischen Aktivität, d. h. die Anzahl der je Gewichtseinheit unter vergleichbaren Umständen mit einem Geiger-Müller-Zählrohr oder einem Szintillationszähler gemessenen Zählrohrauschläge je Minute bzw. die in einer Ionisationskammer unter entsprechenden Bedingungen gemessenen Ionisationsströme.

Das Hevesy-Panethsche Analysenverfahren ist überall dort anwendbar, wo es möglich ist, die quantitativ zu bestimmende Substanz entsprechend der Empfindlichkeitsforderung mit einer so großen spezifischen Aktivität zu markieren, daß die erhaltenen Meßpräparate eine ausreichende Zählrohraktivität aufweisen. Die höchste erreichbare Empfindlichkeit ist gegeben durch die Größe der spezifischen Aktivität, die bei Verwendung trägerfreier radioaktiver Atomarten erzielt werden kann. So lassen sich z. B. mit einem Fensterzählrohr unter den üblichen Meßbedingungen noch etwa $3 \cdot 10^{-16}$ g reiner ^{32}P , $2 \cdot 10^{-14}$ g ^{35}S und $2 \cdot 10^{-9}$ g ^{14}C nachweisen, bzw. eine diesen Gewichten äquivalente Menge markierter Verbindung, wenn zur Radio-Synthese die reinen Radio-Isotope verwendet wurden.

Diese höchste Empfindlichkeit wird im allgemeinen in der Chemie nicht gefordert. Das Verfahren erlaubt es jedoch, durch geeignete Wahl der spezifischen Aktivität, d. h. durch Beimischen radioaktiver Verbindung zur radioaktiven, die Empfindlichkeit beliebig zu variieren.

Viel wichtiger als die erreichbare hohe Empfindlichkeit ist die Tatsache, daß es mit Hilfe dieses Verfahrens möglich ist, in vielen Fällen Verbindungen quantitativ zu bestimmen, für die spezifische, selektive und quantitativ verlaufende Reaktionen fehlen oder in Folge der Gegenwart von störenden Begleitsubstanzen nicht durchführbar sind. Die radio-metrische Methode bietet überdies bei der quantitativen Analyse organischer Verbindungen den Vorteil, daß die analytische Operation nicht unbedingt mit der quantitativ zu bestimmenden Substanz selbst durchgeführt werden muß. Sie erlaubt es, die schwierige und oft unbekannte Chemie von aus komplizierten Molekülen aufgebauten Verbindungen durch die meist gut bekannte der einfachsten Verbindungen, die das zur Markierung herangezogene Element eingehen kann, zu ersetzen, d. h. in der Mehrzahl der Fälle durch die Chemie seiner Ionen in wäßriger Lösung. Denkt man an die zahlreichen Verbindungsklassen der organischen Chemie und die dazugehörigen Einzelverbindungen, deren Chemie nicht nur von einer Verbindungsklasse zur anderen, sondern auch unter Verbindungen der gleichen Klasse verschieden ist, so lassen sich unschwer die Vorzüge eines derartigen analytischen Verfahrens abschätzen.

Die genannte Vereinfachung der chemischen Operationen wird bei organischen Substanzen erreicht, indem die markierten Verbindungen gemeinsam mit sie etwa begleitenden Fremdstoffen auf trockenem oder nassem Wege verascht werden. Das markierte chemische Element und damit die zu einer Markierung verwendete radioaktive Atomart sind dann in der durch den Oxydationsvorgang bedingten chemischen Form vorhanden und lassen sich in den meisten Fällen von den übrigen durch den Veraschungsvorgang umgewandelten Verbindungsbestandteilen trennen, sammeln und zur Messung bringen. In dieser Weise lassen sich organische Verbindungen, die Schwefel, Phosphor, Arsen oder Halogene enthalten, sowie die meisten metallorganischen Verbindungen mit dem radiometrischen Verfahren quantitativ bestimmen, indem man das nach der Veraschung anfallende Sulfat, Phosphat, Arsenat usw. oder die betreffenden Metallionen abscheidet und auf ihren Gehalt an Radioaktivität untersucht.

Es bietet sich aber noch ein weiterer Vorteil. Sehr oft ist bei Forderung sehr hoher Nachweisempfindlichkeit die Menge der nachzuweisenden Verbindung so gering, daß die aus ihr nach der Veraschung gewonnene radio-

aktive Substanz selbst nach den Methoden der Mikrochemie schwer zu handhaben ist. In diesem Fall setzt man inaktives Material gleicher chemischer Form in bekannter Menge als Träger zu und kann so mit den Makroverfahren der Chemie arbeiten.

Die Zugabe von Trägern kann auch dann erforderlich werden, wenn die zur Messung anfallende Substanz eine zu hohe spezifische Aktivität zeigt. Man verringert dann diese in bekannter Weise und mißt nur einen aliquoten Teil der anfallenden Menge.

Umgekehrt ist darauf zu achten, daß die nichtmarkierten Begleitsubstanzen ebenfalls das in der analytisch zu bestimmenden Verbindung enthaltene und zur Markierung verwandte Element aufweisen können, so daß nun die Menge des zu messenden Materials um einen entsprechenden, häufig unbekannten Betrag größer ist. In derartigen Fällen muß die Gesamtmenge des aktiven Materials quantitativ bestimmt werden, um die durch die Beimischung nichtradioaktiver Substanz verursachte Verringerung der spezifischen Aktivität korrigieren zu können. Hier wird die Empfindlichkeitsgrenze also zusätzlich durch die unter Umständen vorhandene Menge Begleitsubstanz beeinflusst, da häufig mehr Meßsubstanz entsteht, als sich unter einem Geiger-Müller-Zählrohr messen läßt. Das gilt besonders bei Markierung von organischen Molekülen mit ^{14}C , wenn die zu analysierende Substanz verascht und das entstehende radioaktive Kohlendioxyd entweder direkt im Gasstrom, oder nach Überführung in Bariumcarbonat gemessen wird, weil hier die aus organischem und biologischem Begleitmaterial anfallenden Mengen inaktiven Kohlenstoffs besonders groß sind.

Aus dem Vorangehenden läßt sich erkennen, daß selbst in Fällen, in denen die quantitativ zu bestimmende Verbindung vor der Analyse chemisch verändert wird, so daß nach den klassischen Analysenverfahren ihre Bestimmung unmöglich ist, ihre quantitative Analyse dennoch durchgeführt werden kann. Dergleichen analytische Probleme treten z. B. in der Pharmakologie und Physiologie auf, wenn verabreichte Stoffe im Organismus umgebaut werden, so daß evtl. vorhandene spezifische Nachweisreaktionen für sie versagen müssen. Bei der Analyse der hier beschriebenen Art wird jedoch nach der Veraschung das Markierungselement unabhängig von der Form, in der es sich befindet, in die zu messende Substanz überführt, so daß die quantitative Analyse der markierten Verbindung möglich wird, obwohl sie unmittelbar vor Analysenbeginn unter Umständen gar nicht mehr existiert.

Das Hevesy-Paneth-Verfahren hat in erster Linie Bedeutung, wenn es gilt, den Verbleib organischer Substanzen quantitativ zu verfolgen, wie dies z. B. in der Pharmakologie erforderlich ist. Da die in der organischen Chemie wichtigen Elemente Kohlenstoff, Wasserstoff, Phosphor, Schwefel, Jod, Arsen und Antimon durch Radioisotope vertreten sind, die sich in sehr hohen spezifischen Aktivitäten herstellen lassen, kann jeder normalerweise in der Chemie auftretenden Forderung nach Empfindlichkeit Genüge getan werden. Es steht hier eine Methode zur Verfügung, die — anpassungsfähig wie kaum eine andere — den gesamten Bereich der ultramikro-, der mikro- und der makroquantitativen Analyse zu überdecken vermag. Ihre einzigartige Spezifität bringt es mit sich, daß jede Störung der Analyse durch chemisch ähnlich reagierende Stoffe ausgeschlossen wird.

Die Grenzen der Hevesy-Paneth-Analyse ergeben sich daraus, daß nur markierte Verbindungen bestimmt werden können. Sie läßt sich also nur dann durchführen, wenn die Markierungssynthese des zu markierenden Stoffes gelingt. Man kann daher mit ihrer Hilfe keinerlei vorgegebene Gemische quantitativ analysieren. Aus diesem Grunde wird sie nur in den seltensten Fällen brauchbar sein, um Routineanalysen auszuführen, sondern mehr dazu dienen, einmalig auftretende spezielle analytische Probleme zu lösen.

2. Die radiometrische Korrektur.

In Kombination mit anderen Analysenmethoden erlaubt das Hevesy-Paneth-Verfahren, bekannte chemische Reaktionen, die schwierig quantitativ durchzuführen sind, für die quantitative Analyse zu benutzen.

Man bezeichnet diese Methode als radiometrische Korrektur. Diese erlaubt gesuchte Menge durch den Analysengang quantitativ erhalten bleiben muß. Es genügt vielmehr, einen beliebigen Teil in einer für das verwendete Analysenverfahren ausreichend reinen Form zu gewinnen und diesen auf gravimetrischem, colorimetrischem oder maßanalytischem Wege quantitativ zu bestimmen. Damit wird die quantitative Analyse aller derjenigen Stoffe wesentlich erleichtert, die schwer ohne Mitfällung anderer, chemisch ähnlicher abzuscheiden sind. Das Verfahren ist am besten an einem Beispiel zu erläutern:

Es ist schwierig, Cer aus einem Gemisch mit anderen Seltenen Erden quantitativ und ohne Verunreinigung auszuscheiden. Verhältnismäßig leicht hingegen ist es, einen unbekannten Bruchteil des Cers in chemisch reiner Form zu gewinnen. Gelingt es, festzustellen, wie groß dieser Bruchteil ist, so läßt sich nach Bestimmung seines Absolutwertes der Gesamtgehalt an Cer mit Hilfe radioaktiver Isotope errechnen².

Man geht dabei so vor, daß man zu der zu analysierenden Cer-Lösung etwas radioaktives ¹⁴⁴Ce setzt. Die hierfür nötige Menge ist so gering, daß sie gewichtsmäßig nicht zu erfassen ist. Sie beträgt etwa $2 \cdot 10^{-9}$ g. Es tritt daher keine im Bereich der analytischen Nachweisbarkeit liegende Vermehrung des Cers ein. Die zugesetzten radioaktiven Atome unterscheiden sich, da sie mit den inaktiven Cer-Atomen isotop sind, chemisch nicht von diesen. Bestimmt man also die Gesamtaktivität des gemischten Präparates, so stellt diese ein Maß für die Gesamtmenge des vorhandenen Cers dar. Man trennt nun aus der zu analysierenden Lösung einen beliebigen Teil des Cers ab, indem es nach der Oxydation mit Natriumbromat und Salpetersäure als Cerjodat mit Natriumjodat aus dem Gemisch der übrigen Seltenen Erden abgeschieden wird. Der Niederschlag, der durch andere Seltene Erden (Praseodym) verunreinigt ist, wird in Salpetersäure gelöst und noch einmal mit Natriumjodat in Gegenwart von Natriumbromat ausgefällt. Diese Umfällung wird wiederholt, bis das vorhandene Cer spektroskopisch rein ist. Der Bruchteil, den das so gewonnene Cer-Präparat von der Gesamtmenge des ursprünglichen Cers darstellt, wird nun durch Bestimmung der Aktivität des Präparates ermittelt. Es ist jetzt nur noch nötig, das spektroskopisch reine Cer-Präparat mit Hilfe einer beliebigen analytischen Methode — photometrisch — quantitativ zu bestimmen und den erhaltenen Wert mit dem durch die radiometrische Analyse festgestellten zu multiplizieren, um die Gesamtmenge des Cers berechnen zu können.

Es liegt auf der Hand, daß sich dieses Prinzip der Markierung einer quantitativ zu bestimmenden Substanz benützen läßt, um die Vollständigkeit einer quantitativen Analyse zu kontrollieren. Dazu wird dem zu bestimmenden Element innerhalb des zu untersuchenden Gemisches in unwägbarer Menge ein geeignetes seiner Radioisotope zugegeben und nach Abschluß der Analyse festgestellt, ob die Gesamtaktivität in dem zur quantitativen Bestimmung verwendeten Niederschlag oder der maßanalytisch untersuchten Lösung vorhanden ist. Jeder Verlust an Substanz während der Abtrennung von anderen Elementen zeigt sich in der Verminderung der gemessenen Aktivität.

3. Das Radio-Indikatoren-Verdünnungsverfahren.

Während die Analysenmethode von Hevesy und Paneth fordert, daß die Gesamtheit der radioaktiven Atome der zu bestimmenden Substanz oder zum mindesten ein bekannter Bruchteil davon bei der Messung erfaßt werden müssen, ist dies bei den Radio-Indikatoren-Verdünnungsverfahren nicht notwendig. Diese Analysenmethode hat ihre Grundlage darin, daß die spezifische Aktivität einer radioaktiv gekennzeichneten Substanz durch Zugabe nicht-markierter Verbindung gleicher Art verringert wird. Man kann mit Hilfe dieses Verfahrens ebenso wie mit der Methode der radiometrischen Korrektur eine innerhalb eines Stoffgemisches vorliegende Substanz quantitativ bestimmen, ohne sie quantitativ abtrennen zu müssen. Es genügt vielmehr, einen beliebigen Bruchteil in chemisch reiner Form zu isolieren und seine Zählrohraktivität zu ermitteln. Damit ist eine zweite Möglichkeit gegeben, Verbindungen quantitativ zu analysieren, die sich nicht gleichzeitig chemisch rein

und quantitativ abscheiden lassen. Überdies ist die Methode geeignet, von einer analytisch zu verfolgenden Substanz denjenigen Anteil zu ermitteln, der im Falle einer chemischen Reaktion mit anderen Stoffen nicht umgesetzt zurückbleibt, wenn die entstehenden Reaktionsprodukte stabil sind und nicht mit den Ausgangsmaterialien im Gleichgewicht stehen. Im Gegensatz zur radiometrischen Korrektur arbeitet das Radio-Indikatoren-Verdünnungsverfahren rein radiometrisch.

Man muß zwei Variationen dieses Verfahrens unterscheiden. Die eine erlaubt es, radioinaktive Verbindungen zu bestimmen. Dazu wird dem Gemisch, das die zu bestimmende Substanz in unbekannter Menge enthält, eine bekannte Quantität markierter Verbindung gleicher Art und bekannter spezifischer Aktivität zugesetzt und dafür gesorgt, daß sich radioaktives und radioinaktives Material homogen vermischt. Anschließend isoliert man einen beliebigen Bruchteil der quantitativ zu ermittelnden Substanz, d. h. des homogenen Gemisches aus unbekannter radioaktiver und bekannter radioaktiver Verbindung, und bestimmt die spezifische Aktivität dieser Mischung. Beträgt die Zählrohraktivität der bekannten zugesetzten Menge a z_1 , so berechnet sich die spezifische Aktivität zu $S_1 = z_1/a$. Nach Zugabe der unbekannten Menge sinkt letztere auf den Betrag $S_2 = z_1/(a+x) = z_2/b$. Diese wird an dem Bruchteil b , dessen Zählrohraktivität z_2 ist, gemessen. x errechnet sich dann aus

$$x = a \left(\frac{S_1}{S_2} - 1 \right). \quad (1)$$

Umgekehrt ist es möglich, durch Zusatz einer bekannten Menge radioaktiver Verbindung eine unbekannte Menge markierter Substanz zu bestimmen, wenn deren spezifische Aktivität bekannt ist. Das Verfahren eignet sich also für Fälle, in denen man die spezifische Aktivität der zu analysierenden Verbindung durch Bestimmung der Zählrohraktivität einer kleinen Probe p ermitteln kann. Es ist also $S_1 = z_p/p = z_x/x$, wobei z_p die Zählrohraktivität der Probe p und z_x die nicht bekannte Zählrohraktivität der unbekannten Menge der zu bestimmenden Substanz im zu analysierenden Gemisch bedeutet. Nach Zugabe einer bekannten Menge a nichtmarkierter Verbindung, die ebenfalls homogen mit der im Gemisch vorhandenen gesuchten Substanz vermischt werden muß, ergibt sich die spezifische Aktivität der Mischung radioaktiver und radioinaktiver Verbindung zu $S_2 = z_x/(x+a) = z_b/b$, wenn z_b für die Zählrohraktivität der chemisch rein isolierten Probe b steht. Die unbekannte Menge der gesuchten Substanz errechnet sich dann zu

$$x = S_2 \cdot a / (S_1 - S_2). \quad (2)$$

Da das erstgenannte Verfahren erlaubt, mit Hilfe markierter Substanzen die quantitative Analyse radioaktiver Verbindungen vorzunehmen, besteht hier, falls die zu bestimmende Verbindung radioaktiv markiert hergestellt werden kann, eine Möglichkeit, Routineanalysen auszuführen und vorgegebene Gemische auf den Gehalt eines nach anderen Methoden schwer quantitativ zu ermittelnden Stoffes zu untersuchen. Ein schönes Beispiel für eine derartige Anwendung ist die Naphthalinbestimmung im Rohteer mittels ^{14}C -Naphthalin.

Die zweite Art der Verdünnungsanalyse ist ein wertvolles Hilfsmittel, wenn markierte Verbindungen hergestellt werden sollen. Sie ermöglicht es, in jeder Stufe die Ausbeute an einem sehr kleinen, aus dem Reaktionsgemisch entnommenen Teil zu bestimmen, wenn man die mol-spezifische Aktivität der Ausgangssubstanz kennt und diese während der Reaktionsfolge erhalten bleibt. Damit kann in vielen Fällen die jeweils folgende Stufe der Synthese angesetzt werden, ohne daß es notwendig ist, die in der vorhergehenden gewonnene markierte Verbindung zu isolieren. Es werden so die mit der Isolierung stets verbundenen Verluste vermieden, die bei dem hohen Preis radioaktiver Substanzen sehr ins Gewicht fallen können.

Beide Verfahren spielen eine große Rolle beim Studium von Stoffwechselvorgängen.

Das Radio-Indikatoren-Verdünnungsverfahren wird ebenfalls in

erster Linie der organisch-quantitativen Analyse dienen. Es zeichnet sich unter der Voraussetzung, daß es gelingt, das zu messende Gemisch von markierter und nichtmarkierter Verbindung chemisch rein zu isolieren, durch hohe Spezifität aus.

4. Die Radioaktivierungsanalyse.

Das dritte Analysenverfahren, das radioaktive Atomarten verwendet, ist die Radioaktivierungsanalyse. Sie beruht darauf, daß es gelingt, von den meisten chemischen Elementen durch Atomkernreaktionen radioaktive Kernarten herzustellen. In erster Linie kommen dabei die in der Abbildung gezeigten Kernprozesse in Betracht, die sich mit Hilfe von Teilchenbeschleunigern (Cyclotron, Kaskadengenerator), natürlich radioaktiven Präparaten (Ra bzw. Po) oder Kernreaktoren durchführen lassen (Abb. 1). Die wichtigste dieser Reaktionen ist die, bei der den bestrahlten Atomkernen ein Neutron angelagert wird, d. h. also Isotope des bestrahlten Elements entstehen. Dieser Kernprozeß läßt sich sowohl mit Hilfe einer Ra + Be-Neutronenquelle als mit einem Uranreaktor durchführen und ist die Grundlage der meisten radioaktivierungsanalytischen Untersuchungen. Mit ihm wurde die Methode durch *Hevesy* und *Levi* 1936 auch eingeführt, um geringe Mengen von Dysprosium in Yttriumpräparaten nachzuweisen. Das Verfahren arbeitet so, daß man die zu untersuchende Substanz, in der ein Element quantitativ bestimmt werden soll, dem Neutronenstrom einer Neutronenquelle bzw. dem Strom der geladenen Teilchen eines Partikelbeschleunigers aussetzt und die nach geeigneter Zeit entstandenen radioaktiven Atome durch Messung mit einem Geiger-Müller-Zähler oder einer Ionisationskammer ermittelt. Mit diesen Instrumenten wird eine der Zerfallsrate, d. h. der Zahl der sich in der Zeiteinheit umwandelnden Atome proportionale Größe, die Zählrohr- oder Ionisationskammeraktivität, gemessen. Kennt man den Proportionalitätsfaktor, d. h. den Nutzeffekt des Meßinstruments, so kann man die Zerfallsrate selber berechnen.

Von der radioaktiven Atomart werden, konstanten Strom der Teilchen, die die Kernreaktion ablaufen lassen, vorausgesetzt, in der Zeiteinheit eine konstante Menge q Atome erzeugt. Von diesen zerfallen auf Grund ihrer Radioaktivität in der Zeiteinheit eine bestimmte Menge $N_a \cdot \lambda_a$. Es gilt daher

$$\frac{dN_a}{dt} = q - \lambda_a N_a, \quad (3)$$

wobei N_a die Zahl der gebildeten radioaktiven Atome und λ_a die Zerfallskonstante dieser Atomart, sowie t die Zeit bedeutet. Die Verhältnisse liegen also hier genau so wie bei der Nachbildung einer von ihrer langlebigen Muttersubstanz abgetrennten kurzlebigen Tochtersubstanz. Integriert man die obige Gleichung, so erhält man

$$\lambda_a N_a = q(1 - e^{-\lambda_a t}). \quad (4)$$

Die Zerfallsrate der entstehenden radioaktiven Atomart ist also proportional einem Faktor, in den die Zeit t eingeht und einer Größe q . Bei der Nachbildung einer kurzlebigen Tochtersubstanz aus einer langlebigen Muttersubstanz ist die Entstehungsrate des Folgeproduktes gleich der Zerfallsrate der Muttersubstanz, also $q = \lambda_m \cdot N_m$, d. h. proportional der Anzahl der vorhandenen Atome der zerfallenden Atomart. Bei der Radioaktivierung ist $q = N_x f \sigma_x$. Dabei bedeutet N_x die Zahl der vorhandenen reaktionsfähigen Atome, f den Partikelfluß, also z. B. die Anzahl der Neutronen je sek und cm^2 und σ_x einen Proportionalitätsfaktor, den man den Wirkungsquerschnitt der ablaufenden Kernreaktion nennt. Die Gleichung nimmt damit die Form*

* Gleichung (5) gilt nur für Reinelemente, d. h. für solche, die lediglich ein stabiles Isotop besitzen. Sind mehrere vorhanden, so muß die relative Häufigkeit h desjenigen Isotops berücksichtigt werden, an dem die Kernreaktion abläuft. Ist σ_x ihr Wirkungsquerschnitt, so ist diese Größe mit h zu multiplizieren.

$$N_a \cdot \lambda_a = N_x f \sigma_x (1 - e^{-\lambda_a t}) \quad (5)$$

an. Kennt man f und σ_x , so läßt sich aus der mit einem Zählrohr bekann-

ten Nutzeffekts bestimmten Zählrate $N_a \lambda_a$ am Ende der Bestrahlung N_x und damit die Menge des bestrahlten Materials errechnen. Sie ergibt sich zu

$$x = \frac{N_a \lambda_a \cdot M}{6,02 \cdot 10^{23} \cdot f \cdot \sigma_x \cdot (1 - e^{-a^t})}. \quad (6)$$

Voraussetzung für gute Resultate nach dieser Methode sind genaue Kenntnis des Nutzeffektes des verwendeten Meßgerätes für die von dem betreffenden radioaktiven Nuklid emittierte Strahlung, konstanter und genau bekannter Neutronenfluß und genaue Kenntnis des Wirkungsquerschnitts. Da letzterer von der Energie der die Kernreaktion hervorruhenden Teilchen abhängig ist, muß auch diese bekannt und einheitlich sein. Alle diese Größen sind nicht sehr leicht exakt zu bestimmen, so daß es erheblicher physikalischer Kenntnisse bedarf, um auf dieser Grundlage Analysen zu machen.

Es besteht jedoch die Möglichkeit, die sich ergebenden Fehlerquellen zu umgehen, indem man zusammen mit dem Präparat, das die unbekannte Menge des zu bestimmenden Elements enthält, eine bekannte Standardmenge unter gleichen Bedingungen mitbestrahlt. Dann verhalten sich die entstandenen Mengen der radioaktiven Atomart von Standard N_{st} und markierter Menge N_{ax} wie die des Elements in Standard St und zu untersuchender Probe und aus dem Verhältnis der unter gleichen Bedingungen gemessenen Zählraten läßt sich unmittelbar die zu ermittelnde Quantität errechnen.

$$\frac{Z_x}{Z_{st}} = \frac{N_{ax}}{N_{st}} = \frac{x}{St}. \quad (7)$$

Bei diesem Verfahren heben sich die möglichen Fehler heraus, da Standard und Probe unter gleichen Verhältnissen aktiviert untersucht werden.

Die durch Kernprozesse entstehenden radioaktiven Atomarten unterscheiden sich in ihrer Halbwertszeit, der Art und Energie der von ihnen ausgesandten Strahlung und in ihrer chemischen Zugehörigkeit. Es treten also zu den üblichen Identifizierungs- und Bestimmungsmöglichkeiten auf Grund der chemischen Eigenschaften zwei weitere Qualitäten hinzu, die es erlauben, die untersuchte Atomart von anderen zu unterscheiden und so die quantitative Analyse des Elements, aus dem sie entstanden ist, durchzuführen.

Bereits die erste Unterscheidungsmöglichkeit auf Grund der verschiedenen Halbwertszeiten bringt eine Reihe von Vorteilen mit sich. Elemente, deren radioaktive Isotope sich durch ihre Halbwertszeit unterscheiden, lassen sich in vielen Fällen nachweisen, ohne daß es nötig ist, sie chemisch zu trennen, so daß man zerstörungsfreie Analysen durchführen kann. Durch geeignete Wahl der Bestrahlungsdauer bzw. der Zeit zwischen Bestrahlungsende und Beginn der Messung wird es möglich, die gewünschte Radioaktivität bevorzugt neben der anderen zu messen.

Ist das zum Nachweis verwendete Radioisotop des zu bestimmenden Elementes kurzlebig und sind die anderen im bestrahlten Präparat auftretenden Radioaktivitäten langlebig, so kann man durch kurze Bestrahlung und unmittelbar im Anschluß an diese beginnende Messung ersteres gut neben den letzteren auszählen. Die Zerfallsrate kurzlebiger Atomarten steigt nämlich nach Gleichung (5), wenn die übrigen Bedingungen annähernd gleich sind, schneller an als die der langlebigen. Die entstandene Radioaktivität klingt nach dem Gesetz des radioaktiven Zerfalls $A_t = A_0 e^{-\lambda_a t}$ je nach der Größe des λ_a schneller oder langsamer ab. Die gemessenen Zählrohraktivitäten setzen sich aus den Zählrohraktivitäten der einzelnen vorhandenen radioaktiven Atomarten zusammen. Trägt man die gemessenen Zählraten auf die logarithmisch geteilten Ordinaten eines Diagrammes auf, dessen metrische Abszisse die Zeit darstellt, so lassen sich aus dem entstehenden Kurvengang die den einzelnen radioaktiven Atomarten zugehörigen Zählrohraktivitäten durch graphische Kurvenanalyse ermitteln, wenn die Halbwertszeiten genügend — d. h. um mindestens den Faktor 5 — auseinander liegen (Abb. 2). Durch Extrapolation der durch die graphische Analyse ermittelten geraden Linie läßt sich die

Zählrohraktivität der jeweils untersuchten Atomart zur Zeit des Bestrahlungs festlegen und damit die für die Gleichung (7) benötigten Werte.

Aber auch wenn die entstehenden radioaktiven Atomarten gleiche oder ähnliche Halbwertszeiten haben, lassen sich auf Grund der zuvor erwähnten Unterschiede eindeutige quantitative Analysen ausführen. Es besteht nämlich die Möglichkeit, radioaktive Atomarten, deren Halbwertszeiten nicht auseinandergehalten werden können, auf Grund der Strahlenart und der Energie der von ihnen emittierten Strahlen zu unterscheiden. Die von den radioaktiven Atomarten ausgesandten Teilchen und Quanten — es handelt sich in der Mehrzahl der Fälle um β -Strahlen und γ -Quanten — werden in Abhängigkeit von der Energie mehr oder weniger von Materie absorbiert. Die Strahlung wird dabei annähernd nach einem Exponentialgesetz geschwächt, so daß zwischen der gemessenen Zählrate und der Schichtdicke x eines zwischen Präparat und Zählrohr eingeschobenen Absorbers die Beziehung $I = I_0 e^{-\mu x}$ besteht, in der I_0 die Zählrohraktivität ohne Absorber und μ den Absorptionskoeffizienten bedeuten. Unterscheiden sich die Absorptionskoeffizienten der β -Strahlen zweier radioaktiver Atomarten genügend, so läßt sich an Hand eines Diagramms, das die obengenannte Abhängigkeit in halblogarithmischer Darstellung zeigt, die Zählrohraktivität ohne Absorber von jeder der beiden Komponenten nach graphischer Analyse des Kurvenzuges ermitteln (Abb. 2). Soll die härtere der beiden Strahlenarten ausgezählt werden, besteht die Möglichkeit, die weiche Komponente völlig zu unterdrücken, indem man eine zu ihrer völligen Absorption genügende Folie einschaltet, die aber die energiereiche Strahlung noch in einem für die Zählrohrmessung ausreichenden Maße durchläßt.

Derartige Absorptionsanalysen lassen sich unter Umständen auch dann durchführen, wenn die beiden radioaktiven Atomarten neben den β -Strahlen noch γ -Quanten emittieren³.

Beide Verfahren versagen, wenn das das langlebige Radionuklid liefernde Element entweder in großem Überschuß vorliegt, oder wenn der Wirkungsquerschnitt der zu ihm führenden Kernreaktion sehr viel größer ist als der der Kernreaktion, durch die das kurzlebige entsteht. Auch wenn die von der nachzuweisenden Atomart emittierte β -Strahlung zu energiearm ist, um sich neben den anderen, ebenfalls auftretenden β -Strahlen gut nachweisen zu lassen, sind die Methoden unbrauchbar. In diesen Fällen wird dann das Verhältnis der entstandenen Zählrohraktivitäten so ungünstig, daß die der kurzlebigen Atomart nicht mehr genau genug gemessen werden kann. Entsprechendes gilt für γ -strahlende Atomarten, die sich jedoch, verglichen mit β -Strahlen, bei viel geringeren Energien unterschieden mittels eines Scintillationsspektographen nebeneinander nachweisen lassen.

Unter derartigen Voraussetzungen besteht die Möglichkeit, eine chemische Trennung vorzunehmen und die zu messende radioaktive Atomart vor der Messung mit Hilfe der Trägermethode von den anderen Radioaktivitäten zu isolieren. Da die Radioaktivierung überwiegend mit Neutronen vorgenommen wird, entstehen meistens radioaktive Isotope des zu bestimmenden Elements und diese müssen zusammen mit den stabilen abgeschieden werden. Man gibt daher in derartigen Fällen, nachdem das bestrahlte Material aufgelöst wurde, eine genau bekannte Trägermenge zu, die so groß sein muß, daß die Quantität des zu bestimmenden Elements dagegen vernachlässigt werden kann. Dann wird homogen vermischt, ein beliebiger Teil des Trägers chemisch und radiochemisch rein isoliert, die Ausbeute bestimmt und der gewonnene Teil gemessen. Aus dem Verhältnis von gewonnener zur Gesamtträgermenge läßt sich dann die Zählrohraktivität der insgesamt bei der Bestrahlung entstehenden radioaktiven Atomart berechnen und damit sind wieder die Voraussetzungen für den Gebrauch der Gleichung (7) gegeben. Das Trägerverfahren kann allerdings nur dann angewendet werden, wenn die für die chemische Trennung benötigte Zeit im Verhältnis zur Halbwertszeit des untersuchten Radionuklids nicht zu groß ist. Andernfalls ist die

gesuchte Radioaktivität abgeklungen, bevor zu messen begonnen werden kann.

Das Radioaktivierungsverfahren erlaubt überdies eine Art quantitative Bestimmung, die mit keinem anderen chemischen Verfahren durchgeführt werden kann. Sie ermöglicht in manchen Fällen die Analyse des Isotopengemisches eines Elementes, d. h. mit ihrer Hilfe kann die Verschiebung der Zusammensetzung eines solchen Gemisches gegenüber dem normalen Mischungsverhältnis bestimmt werden. Aus den verschiedenen Isotopen eines Elementes entstehen, wenn sie mit Neutronen bestrahlt werden, Radioisotope verschiedener Halbwertszeit und Strahlenenergie. Das Verhältnis der bei einer solchen Bestrahlung auftretenden radioaktiven Kerne läßt sich an Hand der entstehenden relativen Aktivitäten ermitteln. Erweist sich dieses Verhältnis im Vergleich zu einer Standardprobe verändert, so läßt sich daraus die Verschiebung des Isotopenverhältnisses berechnen. Derartige Untersuchungen waren bisher der Massenspektroskopie vorbehalten, aber neuere Arbeiten von Herr⁴ haben gezeigt, in welcher Weise die Radioaktivierungsanalyse diese Methode ergänzen kann.

Die Radioaktivierungsanalyse dient im Gegensatz zu den beiden anfangs beschriebenen Verfahren nur der anorganisch-quantitativen Analyse. Sie zeichnet sich, wenn ein genügend großer Fluß von den gewünschten Kerneaktion hervorrufenden Partikeln verfügbar ist, durch ungewöhnlich hohe Empfindlichkeit aus (Tabelle 1). Außerdem ist das Verfahren wegen der Möglichkeit, Halbwertszeiten und Strahlenenergien neben der chemischen Zuordnung zur Identifizierung zu gebrauchen, sehr spezifisch. Ein ganz wesentlicher Vorteil dieser Methode, die wie wenig andere geeignet ist, quantitative Spurenanalyse zu treiben, besteht darin, daß es unmöglich ist, das gesuchte Element mit den während der chemischen Operationen benötigten Chemikalien einzuschleppen.

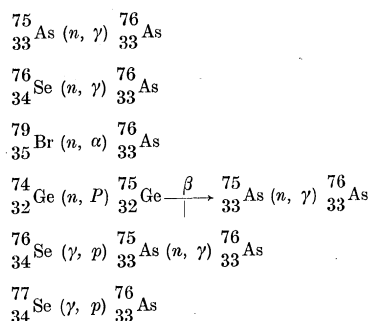
Tabelle 1. Empfindlichkeit des radioaktivierungsanalytischen Nachweises für einige Elemente bei Bestrahlung im Uranreaktor bei einem Neutronenfluß von 10^{12} /sek cm².

Element	Zum Nachweis verwendete radioaktive Atomart	Halbwertszeit	Wirkungsquerschnitt des radioaktivierten Isotops	Häufigkeit des radioaktivierten Isotops im Element	Nachweisbare Menge in g
Dy.....	¹⁶⁵ Dy	140 m	2.800	28,2	$6 \cdot 10^{-13}$
Eu.....	¹⁵² Eu	9,3 h	1.000	47,8	$9 \cdot 10^{-13}$
Ir.....	¹⁹² Ir	70 d	740	38,5	$2 \cdot 10^{-12}$
Rh.....	¹⁰⁴ Rh	44 s	138	100	$2 \cdot 10^{-12}$
Tm.....	¹⁷⁰ Tm	127 d	120	100	$4 \cdot 10^{-12}$
In.....	¹¹⁶ In	54 m	52	95,8	$5 \cdot 10^{-12}$
Lu.....	¹⁷⁷ Lu	6,8 d	3.600	2,6	$5 \cdot 10^{-12}$
Co.....	⁶⁰ Co	5,3 a	34	100	$5 \cdot 10^{-12}$
Au.....	¹⁹⁸ Au	2,7 d	95	100	$6 \cdot 10^{-12}$
Ag.....	¹¹⁰ Ag	24 s	85	48,6	$7 \cdot 10^{-12}$
Ir.....	¹⁹⁴ Ir	19 h	130	61,5	$7 \cdot 10^{-12}$
Ho.....	¹⁶⁶ Ho	27,2 h	67	100	$7 \cdot 10^{-12}$
Sm.....	¹⁵³ Sm	47 h	200	26,8	$8 \cdot 10^{-12}$
Tb.....	¹⁶⁰ Tb	74 d	55	100	$8 \cdot 10^{-12}$
Re.....	¹⁸⁸ Re	18,9 h	74	62,9	$1 \cdot 10^{-11}$
Sc.....	⁴⁶ Sc	85 d	12	100	$1 \cdot 10^{-11}$
Cs.....	¹³⁴ Cs	2,3 a	26	100	$1 \cdot 10^{-11}$
Mn.....	⁵⁶ Mn	2,6 h	12	100	$1 \cdot 10^{-11}$
Ta.....	¹⁸² Ta	117 d	21	100	$2 \cdot 10^{-11}$
Ag.....	¹⁰⁸ Ag	2,3 m	34	51,4	$2 \cdot 10^{-11}$
Lu.....	¹⁷⁶ Lu	3,7 h	20	97,4	$3 \cdot 10^{-11}$
V.....	⁵² V	3,7 m	4,8	99,8	$3 \cdot 10^{-11}$
Pr.....	¹⁴² Pr	19,3 h	11	100	$4 \cdot 10^{-11}$
La.....	¹⁴⁰ La	40 h	9	99,9	$4 \cdot 10^{-11}$
As.....	⁷⁶ As	26,8 h	4	100	$5 \cdot 10^{-11}$
Br.....	⁸⁰ Br	18 m	8,5	50,6	$5 \cdot 10^{-11}$
Cu.....	⁶⁴ Cu	12,9 h	4,3	69	$6 \cdot 10^{-11}$
I.....	¹²⁸ I	25 m	6,1	100	$6 \cdot 10^{-11}$
Na.....	²⁴ Na	14,8 h	0,48	100	$1 \cdot 10^{-10}$

Die Grenzen des Verfahrens sind dadurch gegeben, daß man aus zwei Gründen nur kleine Mengen bestrahlen kann. Einmal lassen es die räum-

lichen Verhältnisse nicht zu, größere Substanzmengen zu bestrahlen und zum anderen würden größere Proben in ihren äußeren Schichten so viel vom Partikelfluß absorbieren, daß die inneren Teile nicht mehr gleichmäßig bestrahlt würden. In vielen Fällen ist es überdies unmöglich, Flüssigkeiten zu bestrahlen, da diese durch die in den Bestrahlungsanlagen auftretende Wärme verdampfen bzw. von der intensiven Bestrahlung in H_2 und O_2 zerlegt werden, so daß die Gefäße, in denen bestrahlt wird, platzen. Die Qualität der Ergebnisse hängt außerdem von der Reinheit des mitbestrahlten Standardpräparates ab. Schließlich besteht die Gefahr, daß die zur radiometrischen Analyse benutzte radioaktive Atomart auf verschiedenen Wegen entsteht und damit nicht mehr als Maß für das zu bestimmende Element anzusehen ist. So kann z. B. ^{76}As durch die fünf in der Tabelle 2 aufgeführten Kernreaktionen im Uranreaktor entstehen.

Tabelle 2.



Vergleicht man das, was die drei genannten Methoden zu bieten vermögen, so läßt sich erkennen, welche Bedeutung die Radio-Indikatoren-methode für die analytische Chemie im allgemeinen und die Mikrochemie im besonderen hat. Die Radiometrie ist nicht weniger vielseitig und anpassungsfähig als z. B. die Kolorimetrie. Sie zeichnet sich aber durch höhere Spezifität aus. Es wird sicher in erster Linie ihre Aufgabe bleiben, spezielle, einmalig auftretende Probleme zu lösen, für die andere Methoden nicht ausgearbeitet sind oder die sich anderweitig nicht bearbeiten lassen. Man geht aber sicher nicht fehl, anzunehmen, daß die quantitative Analyse mit Hilfe radioaktiver Indikatoren ihren Weg aus den Laboratorien der Forschung auch in die Praxis finden wird.

Zusammenfassung.

Alle Verfahren der quantitativen Analyse mit Hilfe radioaktiver Atomarten beruhen auf der von *Hevesy* und *Paneth* eingeführten Radio-Indikatoren-methode. Das von diesen Autoren erdachte Analysenverfahren hat heute besondere Bedeutung für organisch-analytische Fragen, wie sie z. B. in der Pharmakologie auftreten. Die Verdünnungsanalyse kann unter Umständen auch für Reihenanalysen wertvoll sein. Die Radioaktivierungsmethode schließlich eignet sich hervorragend zur quantitativen Spurenanalyse anorganischer Ionen. Alle drei Verfahren zeichnen sich durch hohe Empfindlichkeit und große Spezifität aus. Sie sind vielseitig und anpassungsfähig.

Summary.

All procedures of quantitative analysis involving the use of radioactive species of atoms are based on the radio-indicator methods introduced by *Hevesy* and *Paneth*. The analytical procedure devised by these authors is of special importance at present with respect to organic-analytical problems, such as are encountered for instance in pharmacology. Likewise, dilution analysis can be of value in series analyses under some circumstances. Finally, the radio activation method is excellently suited for the quantitative trace analysis of inorganic ions. All three procedures are characterized by high sensitivity and great specificity. They are versatile and adaptable.

Literatur.

- ¹ G. v. Hevesy und F. A. Paneth, Z. anorg. Chem. 82, 323 (1913).
- ² A. J. Freeman und D. N. Hume, Analyt. Chemistry 22, 932 (1950).
- ³ G. E. Boyd, Analyt. Chemistry 21, 335 (1949).
- ⁴ W. Herr, Z. Naturforsch. 8a, 305 (1953); 9a, 907 (1954); im Druck.

Abb. 1 Darstellung einiger Kernreaktionen, die für die Aktivierungsanalyse verwendet werden können. A = Massenzahl, Z = Kernladungszahl, N = Neutronenzahl, γ = γ -Teilchen, d = Deutron, p = Proton, n = Neutron, γ = γ -Quant. Das Schema zeigt, in welcher Weise sich A , Z und N eines Ausgangsatomkernes ändern, wenn die in den entsprechenden Koordinaten angegebenen Kernreaktionen ablaufen.

Abb. 2. Schema einer graphischen Kurvenanalyse, wie sie sich nach der Messung von Gemischen zweier radioaktiver Atomarten ergeben kann, die sich entweder durch Halbwertszeit oder γ -Strahlenenergie unterscheiden.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/65.

Zeilenanzahl: 355.

Laboratoire de chimie analytique de l'Université de Gand, Belgique.

Dosage microgravimétrique et spectrophotométrique du calcium par la lorétine.

Par

J. Gillis, J. Van Der Stock et J. Hoste.

Avec 2 figures.

(Reçu le 11 mai 1955.)

I. Introduction.

En 1932 C. Van Zipp¹ présenta l'acide 7-iodo-8-hydroxyquinoline-5-sulfonique comme réactif qualitatif du calcium. Par la suite N. Schoorl² développa une méthode quantitative au moyen du même réactif, la limite inférieure du dosage étant de 5 mg de calcium.

Ce dosage présente de nombreux avantages: précipité macrocristallin aisément filtrable, facteur analytique très élevé, pas de perturbations dues à la présence éventuelle de fortes quantités de magnésium et des ions alcalins.

Le mode opératoire présenté par Schoorl a toutefois le désavantage de nécessiter une très forte concentration initiale en calcium, notamment de l'ordre de 2%, ce qui limite sensiblement les applications pratiques du réactif. Nous avons commencé par élaborer une méthode semi-micro et micro-gravimétrique, permettant d'obtenir une précipitation quantitative, même à partir de solutions diluées.

J. H. Yoe³ a d'autre part mis au point une méthode colorimétrique du fer trivalent par la lorétine. Ce réactif donne en effet lieu à la formation d'un complexe vert intense avec l'ion ferrique^{4,5}. En faisant réagir un excès de fer sur le lorétinate de calcium, il était par conséquent à prévoir qu'il serait possible de doser indirectement cet élément par spectrophotométrie. La mise au point de ce dosage fait l'objet de la troisième partie de cette communication.

II. Dosage semi-micro gravimétrique.

Schoorl (l.c.) propose comme formule du lorétinate de calcium $3 [\text{Ca} (\text{C}_9\text{H}_4\text{NJOHSO}_3)_2] \cdot 10 \text{ H}_2\text{O}$, ce qui correspond à un facteur analytique $F = 19,98$.

Cet auteur ne mentionnant pas la méthode par laquelle ce facteur fut obtenu, nous avons estimé nécessaire de réexaminer la composition du lorétinate de calcium.

Mode opératoire:

a) Préparation du lorétinate de calcium:

A 20 ml d'une solution contenant environ 400 mg de chlorure de calcium, on ajoute 25 ml d'une solution tampon de $\text{pH} = 4$ (acétate de sodium-acide acétique). On chauffe au bain-marie et on ajoute 500 ml d'une solution aqueuse de lorétinate de sodium à 3,5%. On laisse reposer pendant 15 minutes, on filtre, lave à l'eau distillée et on sèche le précipité à l'étuve pendant une heure à une température de 100° C.

b) Analyse du lorétinate de calcium:

Cinq échantillons de lorétinate de calcium, provenant de préparations différentes, sont calcinés progressivement dans un creuset en porcelaine. Après avoir laissé refroidir, on ajoute quelques gouttes d'acide sulfurique concentré et on incinère le sulfate obtenu à 800° C.

Le tableau I résume les résultats.

Tableau I.

Prise g	Poids du CaSO_4 g	Facteurs analytiques
4,8929	0,8390	19,86
5,2120	0,8948	19,82
4,2496	0,7306	19,79
4,6015	0,7850	19,84
4,0771	0,6995	19,80

En moyenne nous obtenons donc un facteur $F = 19,82$, ce qui correspond à la formule élémentaire du lorétinate de calcium: $\text{Ca}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NJOHSO}_3)_2 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ dont le facteur analytique est:

$$\frac{794,18}{40,07} = 19,819.$$

Ce résultat, confirmé par l'analyse thermogravimétrique (voir plus loin), est en désaccord avec le facteur proposé par *Schoorl*.

L'influence du p_H sur la précipitation quantitative du lorétinate fut examinée à l'aide d'une série de solutions-tampon dont l'acidité variait de $p_H = 2$ à 6. L'expérience a démontré que la précipitation est quantitative de $p_H = 3,7$ à 5,9. La méthode ne nécessite donc aucun ajustement précis de l'acidité.

L'influence de la concentration du réactif fut étudiée sur une prise de 25 ml de solution, contenant 200 mg de calcium par litre, à laquelle nous avons ajouté, dans les conditions de p_H requises, 15 à 100 ml d'une solution saturée de lorétine dans l'hydroxyde de sodium 0,1 N (2,83% en lorétine). Les résultats sont résumés dans le tableau II.

Tableau II.

N°	ml de réactif	Lorétinate de Ca trouvé mg	N°	ml de réactif	Lorétinate de Ca trouvé mg
1	15	92,7	7	45	100,1
2	20	96,9	8	50	99,7
3	25	98,6	9	65*	101,1
4	30	98,5	10	75*	101,5
5	35	99,3	11	100*	101,8
6	40	99,4			

Le poids théorique du lorétinate de Ca à obtenir est de 99,9 mg pour les expériences 1 à 8 et de 101,9 mg pour les expériences 9 à 11.

Il apparaît donc que pour précipiter quantitativement le calcium, la présence d'au moins 40 ml de réactif est nécessaire, soit plus de dix fois la valeur théorique. Le tableau II montre d'autre part qu'un excès de 25 fois la valeur théorique ne gêne pas le dosage. Il est toutefois à noter que, dans les conditions de précipitation décrites ci-dessus, la précipitation du calcium n'est que quantitative si sa concentration dépasse 100 mg par litre. Afin de remédier à la dilution du calcium par l'addition du réactif, nous avons examiné les lorétinates d'ammonium, potassium, et lithium, tous plus solubles que celui du sodium. L'expérience démontre que le lithium convient le mieux à cet effet. Une solution saturée de lorétine dans le carbonate de lithium contient en effet 6,5% de lorétine. Au moyen de ce réactif il est possible de précipiter quantitativement le calcium jusqu'à une dilution de 10 mg de calcium par litre.

Afin d'obtenir une précipitation quantitative du calcium, il est nécessaire de laisser reposer la solution, après addition du réactif, pendant au moins 2 heures. Le repos dans un réfrigérant à 4° est à déconseiller (précipitation du réactif).

Après filtration du précipité sur creuset filtrant (Jena 10 G 3) on lave deux fois par 2 ml d'alcool et deux fois 2 ml d'acétone.

Afin de déterminer la température de séchage, nous avons examiné le comportement du lorétinate de calcium dans la thermobalance *Chevenard*. La courbe de chauffage a été obtenue à partir de 0,1550 g de lorétinate de calcium, qui fut chauffé de 20° à 1025° en 210 minutes (Fig. 1).

L'analyse de la courbe thermogravimétrique démontre la présence des composés suivants:

- a) de 60° à 130°: $\text{Ca}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NJOHSO}_3)_2 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$
- b) de 165° à 235°: $\text{Ca}(\text{C}_6\text{H}_4\text{NJOHSO}_3)_2$ (lorétinate de calcium anhydre)
- c) de 540° à 960°: CaSO_4

Nous pouvons donc conclure que la pesée finale du lorétinate peut se faire sous la forme du trihydrate après séchage en dessous de 130°, soit sous la forme du sel anhydre par séchage en dessous de 235° C. Ces résultats sont en désaccord avec ceux de *C. Duval*⁶. Nous supposons que la lorétine employée par *Schoorl* et *Duval* n'était pas suffisamment pure. Nous avons constaté en effet que la lorétine du commerce est souvent déficiente en iode. Nous avons toujours utilisé de la lorétine fraîchement recristallisée (voir plus loin).

Nous avons examiné l'influence de quelques ions courants sur la détermination gravimétrique du calcium. La concentration en calcium des essais décrits était de 200 mg/litre. Les résultats sont résumés dans le tableau III.

Tableau III.

Ion étranger	Concentration	Lorétinate trouvé mg	% erreur
K ⁺	10 ⁻³	104,7	- 0,3
K ⁺	10 ⁻²	101,7	- 3,3
NH ₄ ⁺	10 ⁻³	104,1	- 0,9
NH ₄ ⁺	10 ⁻²	104,2	- 0,8
Mg ²⁺	10 ⁻⁵	104,3	- 0,7
Mg ²⁺	10 ⁻⁴	104,5	- 0,5
Mg ²⁺	10 ⁻³	103,3	- 1,7
Mg ²⁺	10 ⁻²	gène (préc.)	-
Na ²⁺	10 ⁻²	105,1	+ 0,1
Pb ²⁺	10 ⁻³	111,8	+ 6,8
Ni ²⁺	10 ⁻³	104,3	- 0,7
Mn ²⁺	10 ⁻³	101,0	- 4,0
As ³⁺	10 ⁻³	-	-
Citrate	10 ⁻²	105,6	+ 0,6
Tartrate	10 ⁻³	105,4	+ 0,4
Sulfate	10 ⁻³	104,4	- 0,6
Iodure	10 ⁻³	103,9	- 1,1
Perchlorate	10 ⁻³	104,3	- 0,7
Néant	néant	104,8	- 0,2
Néant	néant	105,3	+ 0,3

Il apparaît que parmi les ions examinés le plomb, le manganèse et l'arsenic gênent, tandis que la concentration en magnésium et en potassium ne peut dépasser une concentration de 10⁻³, ce qui correspond à un rapport calcium/ion étranger de 1/5. Il est à Remarquer que certains produits organiques, notamment l'alcool, l'acétone, les acides aminés et l'albumine, empêchent la précipitation du lorétinate de calcium.

Mode opératoire.

En tenant compte des facteurs étudiés ci-dessus, nous avons adopté le mode opératoire suivant: A la solution neutre à doser, qui contient de 5 à 50 mg de calcium, on ajoute successivement 1,5 ml d'acide acétique glacial et 25 ml d'une solution de lorétinate de lithium. On laisse reposer pendant au moins 2 heures à la température ordinaire. On filtre le précipité sur un creuset filtrant (Jena 10 G 3), on lave 2 fois par 2 ml d'alcool et par deux fois 2 ml d'acétone. On sèche à l'étuve à 105° pendant 30 minutes. On pèse en prenant les précautions d'usage.

Préparation du réactif: la lorétine commerciale, qui est généralement impure est recristallisée par dissolution dans la soude caustique 2 N. On ajoute ensuite de l'acide chlorhydrique jusqu'à réaction fortement acide. On laisse refroidir 24 heures. La 10-rétine précipite sous forme d'aiguilles cristallisées.

Les résultats d'une série de sept déterminations, illustrées dans le tableau IV, donnaient lieu à une erreur moyenne de 0,35%.

Tableau IV.

Poids du lorétinate mg	Poids théor. mg	% d'erreur
41,94	41,96	0,05
41,90	41,96	0,1
41,91	41,96	0,1
41,56	41,96	1,0
42,18	41,96	0,5
42,11	41,96	0,3
42,09	41,96	0,3

III. Dosage micro-gravimétrique.

En travaillant dans les conditions opératoires décrites dans le dosage semi-micro gravimétrique, nous avons réussi à adapter la méthode à l'échelle microgravimétrique par l'emploi de bechers filtrants d'après *Schwarz-Bergkampff*. Ceci nous a permis de diminuer la limite inférieure du dosage à 0,2 mg de calcium par ml.

Mode opératoire:

A l'aide d'une pipette siliconisée, on prélève 1 ml de la solution à analyser, qu'on introduit dans un becher de *Schwarz-Bergkampff*. On ajoute 1 goutte d'acide acétique à 10% et 1 ml de réactif. On laisse reposer pendant 4 heures. On filtre, lave une fois par 1 ml d'alcool et 2 fois par 1 ml d'acétone. On sèche à l'étuve à 100° pendant 30 minutes et on pèse en prenant les précautions d'usage.

Le tableau V résume quelques résultats obtenus par cette méthode.

Tableau V.

N°	Poids du lorétinate mg	mg de Ca		% d'erreur
		théor.	trouvés	
1	4,274	0,2148	0,2156	0,4
2	4,213	0,2148	0,2226	1,0
3	4,269	0,2148	0,2154	0,7
4	4,277	0,2148	0,2158	0,5
5	4,278	0,2148	0,2158	0,5
6	4,261	0,2148	0,2150	0,1
7	4,252	0,2148	0,2145	0,1
8	4,225	0,2148	0,2132	0,8
9	4,214	0,2148	0,2126	0,8
10	4,238	0,2148	0,2138	0,4
11	8,292	0,4186	0,4183	0,1
12	8,311	0,4186	0,4192	0,1
13	8,315	0,4186	0,4195	0,2
14	8,380	0,4186	0,4228	0,2
15	8,226	0,4186	0,4150	0,9

L'erreur moyenne sur quinze déterminations est de 0,45%.

IV. Détermination spectrophotométrique.

Afin de déterminer le calcium par voie spectrophotométrique, nous devons examiner s'il était possible de redissoudre le lorétinate de calcium et de convertir la lorétine en complexe ferrique. Le dosage du fer trivalent par la lorétine a déjà été étudié par *J. H. Yoe*³. Pour nous le problème inverse était posé, notamment le dosage de la lorétine par le fer. Nous avons donc étudié le comportement spectrophotométrique du complexe lorétine-Fe(III) vis-à-vis de divers facteurs pouvant influencer l'extinction.

A l'aide d'une série de solutions tampon de pH 0,29 à 5,15, nous avons étudié l'influence du pH sur l'extinction du complexe en présence d'un excès de fer. Les résultats démontrent que l'extinction mesurée à une longueur d'onde de 625 m μ , atteint un maximum à pH = 3,4. La courbe de l'extinction en fonction du pH ne comporte pas de palier, et présente une assez forte variation pour des différences de pH minimales. Dans ces conditions il nous a semblé préférable de redissoudre le lorétinate de calcium dans une solution d'acide chlorhydrique 0,01 N, contenant une teneur appropriée en ion ferrique. L'extinction du complexe ferrique ne

varie en effet que de 0,1% pour une normalité en acide chlorhydrique comprise entre 0,0105 et 0,0095 N.

Nous avons démontré qu'un excès de fer égal au double de la valeur théorique est nécessaire pour obtenir une extinction maxima c. à d. environ 2 moles de Fe(III) pour 3 moles de lorétine, tandis qu'un excès de 30 moles de fer pour 3 moles de lorétine n'influence pas l'extinction.

En mesurant l'extinction du complexe pendant 24 heures, nous avons pu constater que le complexe est parfaitement stable au cours de cette période.

A l'aide d'un spectrophotomètre Beckman DU nous avons déterminé la courbe d'absorption du complexe de 550 m μ à 710 m μ . Le spectrophotomètre était réglé à 3 tours de sa sensibilité maxima. Les mesures ont été exécutées de 10 à 10 m μ et aux environs du maximum d'extinction de 2,5 à 2,5 m μ . Des cuvettes en Corex de 1 cm ont été employées pour toutes les mesures. Le résultat est représenté dans la Fig. 2, pour une concentration en lorétine de 14,96 mg/litre. Il s'en suit que la longueur d'onde d'absorption maxima est située de 625 à 635 m μ .

En nous mettant dans les conditions opératoires décrites précédemment, nous avons établi une courbe d'étalonnage pour des concentrations de calcium variant de 21,2 μ g à 212,0 μ g par ml.

Mode opératoire:

On prélève 1 ml de la solution à doser contenant 21,2 à 212 μ g de Ca, que l'on introduit dans un tube à essai à fond plat (hauteur 10 cm, $\varnothing$ 1,5 cm). On ajoute 1 goutte d'acide acétique à 10%, 2 ml de lorétinate de lithium et on laisse reposer à la température ordinaire de 2 à 6 heures suivant la quantité de calcium. On filtre la solution au moyen d'une baguette filtrante (Jena G 3) et on lave une fois par 1 ml d'alcool et une fois par 1 ml d'acétone. On ajoute 10 ml de la solution ferrique et on agite le mélange à l'aide de la baguette afin de dissoudre le précipité et d'homogénéiser la solution. On mesure l'extinction à l'aide d'un spectrophotomètre Beckman DU à la longueur d'onde de 625 m μ .

Réactifs:

1. Solution de Ca standardisée, préparée par dissolution de CaCO₃ dans l'acide acétique.
2. Lorétinate de lithium: 7 g de lorétine recristallisée est dissous dans 100 ml de carbonate de lithium 0,25 M. On laisse reposer quelques heures et filtre sur Jena G 3.
3. Solution ferrique: On dissout 1,718 g d'alun ferrique dans 1 litre d'acide chlorhydrique 0,1000 N. Cette solution est diluée dix fois avant l'emploi.
4. Acide acétique à 10%.

Remarque: tous les réactifs ont été préparés avec de l'eau bidistillée. Les résultats d'une courbe d'étalonnage sont représentés dans le tableau VI.

Tableau VI.

μ g de Ca	Extinction	Extinction pour 100 μ g de Ca par 10 ml	% d'erreur
21,2	0,174	0,821	+ 7
42,4	0,345	0,814	0
63,6	0,513	0,807	- 7
84,4	0,692	0,820	+ 6
106,0	0,862	0,813	- 1
127,2	1,035	0,814	0
148,4	1,205	0,812	- 2
169,6	1,383	0,815	+ 1
190,1	1,550	0,812	- 2

Erreur moyenne: 0,35 %.

Il est évident que la sensibilité de la méthode peut être sensiblement accrue en redissolvant le lorétinate de calcium dans une plus petite quantité de solution ferrique.

L'extinction est donc en moyenne, pour 100 μ g de calcium dans 10 ml de solution, de 0,814; l'erreur moyenne étant de 0,35%. La loi de Lambert-Beer est suivie entre les limites considérées.

Résumé.

Les auteurs ont élaboré une méthode semi-micro et micro-gravimétrique et une méthode spectrophotométrique pour le dosage du calcium par la lorétine. Après avoir établi le facteur analytique du lorétinate de calcium par voie gravimétrique et thermogravimétrique, ils ont démontré la possibilité de doser le calcium à l'échelle semi-micro gravimétrique pour des quantités allant de 5 mg à 50 mg, l'erreur moyenne étant de 0,35%. La méthode microgravimétrique permet de ramener la quantité minima à doser à 0,2 mg de calcium par ml, l'erreur moyenne étant de 0,45%. L'influence d'une série d'ions étrangers fut étudiée. La plupart ne gênent pas le dosage, même s'ils sont présents en quantités importantes. Par spectrophotométrie indirecte, notamment en redissolvant le lorétinate de calcium dans un excès d'une solution ferrique, les auteurs ont réussi à doser des quantités de calcium de l'ordre de 20 μ g avec une erreur moyenne de 0,35%.

Zusammenfassung.

Die Verfasser haben eine semimikro- und eine mikrogravimetrische Methode und ein spektrophotometrisches Verfahren zur Bestimmung von Calcium mit Loretin (7-Jod-8-oxychinolin-5-sulfonsäure) ausgearbeitet. Nach Festlegung des Umrechnungsfaktors des Calciumloretinats auf gravimetrischem und thermogravimetrischem Wege wurde gezeigt, daß durch Semimikrogravimetrie Calciummengen von 5 bis 50 mg mit einem mittleren Fehler von 0,35% bestimmbar sind. Die mikrogravimetrische Methode eignet sich für 0,2 mg Calcium/ml mit einem mittleren Fehler von 0,45%. Der Einfluß einer Reihe von Fremdionen wurde untersucht. Die meisten davon stören nicht, auch wenn sie in bedeutender Menge vorhanden sind. Durch indirekte Spektrophotometrie, nämlich durch Auflösen des Calciumloretinats in überschüssiger Eisen(III)-Lösung gelang es, Calciummengen in der Größenordnung von 20 μ g mit einem mittleren Fehler von 0,35% zu bestimmen.

Bibliographie.

- ¹ C. van Zipp, Pharm. Weekbl. **69**, 1191 (1932).
- ² N. Schoorl, Pharm. Weekbl. **76**, 620 (1939).
- ³ J. H. Yoe, J. Amer. Chem. Soc. **54**, 4139 (1932).
- ⁴ H. W. Swank et M. G. Mellon, Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed. **9**, 406 (1937).
- ⁵ M. Frommes, Z. analyt. Chem. **97**, 36 (1934).
- ⁶ C. Duval, Inorganic thermogravimetric analysis. Amsterdam: Elsevier. 1953. p. 159.

Aus der Chemischen Abteilung des Paracelsus-Institutes Bad Hall, Ober-
österreich.**Zur Methodik der Blutjodbestimmung.**

Von

H. Spitzzy und H. Lieb.

Mit 2 Abbildungen.

(Eingelangt am 11. Mai 1955.)

Die Bestimmung des Jodgehaltes in biologischem Material, besonders seine Differenzierung nach organischer und anorganischer Bindung in Serum bzw. Organgeweben, ist für das Studium des endogenen Jodhaushaltes und die Differentialdiagnose von Schilddrüsenerkrankheiten von Bedeutung. Methodische Schwierigkeiten und die daraus resultierenden unzuverlässigen, oft widerspruchsvollen Ergebnisse stehen bislang der Anwendung eines solchen Verfahrens auf breiter Basis gleich anderen klinisch-chemischen Routinemethoden entgegen. Über 40 Verfahren — meist Modifikationen um wenige prinzipielle Möglichkeiten — sind in der Literatur beschrieben. Sie gliedern sich nach dem heutigen Stand in zwei Gruppen:

1. Alkalischer¹⁻⁴ oder saurer^{5,6} Aufschluß des biologischen Materials durch Veraschung, Wegfall einer Freilegung des Jods mit Hilfe der Destillation durch direkte Bestimmung des Jodgehaltes im Veraschungsrückstand. Die durch anwesende Fremdionen erhebliche Beeinflussung der Mikrotitration von Jod sowie der heute allgemein verwendeten Katalysereaktion für die Bestimmung des Jodids⁷ weisen u. E. diesen Verfahren³⁻⁶ nur den Charakter einer groben Orientierung zu.

2. Offene, saure Veraschung des biologischen Materials in Gegenwart von Chromsäure als Oxydant, Reduktion der dabei entstandenen Jodsäure und darauffolgende Destillation in alkalische Vorlagen zur Isolierung und kolorimetrischen bzw. titrimetrischen Bestimmung des Jods. Dieses Vorgehen gilt heute als zuverlässigstes Analysenprinzip und ist der grundlegenden Methodik von *Leipert*⁸ zu danken. Zu diesem Verfahren wurden in der Folge eine Reihe geringer Abänderungsvorschläge und ergänzender Hinweise publiziert⁹⁻¹¹. Die Jodbestimmung im Destillat erfolgt durch Mikrotitration, deren Erfassungsgrenze etwa bei 1 μ g liegt. Die dadurch bedingte Mindestmenge an Serum (10 bis 20 ml pro Bestimmung) versuchten kürzlich *Zacherl* und *Stöckl*¹¹ dadurch zu reduzieren, daß sie eine Potenzierung zur 36fachen Jodmenge vornehmen, wobei allerdings die erforderliche zweite Destillation den Analysengang kompliziert.

Eine wesentliche Empfindlichkeitssteigerung des Analysenprinzipes und damit Aussicht auf Anwendung bei experimentellen biologischen Reihenuntersuchungen brachte der Ersatz der Titration durch die photometrische Auswertung des katalytischen Einflusses von Jodid auf die Entfärbung von Cerisulfat durch arsenige Säure⁷, da diese nur mehr Serummengen von 2 bis 3 ml für eine Jodbestimmung erfordert. Das Studium dieser Reaktion für praktische Belange sowie apparative Vereinfachungen des Destillationsvorganges sind das Verdienst von *Chaney*¹² sowie von *Talbot*¹³, *Taurog* und *Chaicoff*¹⁴ und schließlich *Barker*¹⁵. Zahlreiche weitere methodische und apparative Vorschläge¹⁶⁻²⁴ u. a. sowie kritische und ergänzende Beobachtungen zu einzelnen Verfahren²⁵⁻²⁹ — allein in den letzten fünf Jahren — zeigen, daß keine Methode bei praktischer Anwendung ganz befriedigt.

Kürzlich hat nun *Klein*³⁰, im wesentlichen den Autoren¹³⁻¹⁵ folgend,

ein Verfahren beschrieben, dessen Anwendung für unsere experimentellen Arbeiten erfolgversprechend schien, zumal wir u. a. mit den Methoden von *Sobel* und *Sapsin*²² sowie *Zak* und Mitarbeitern⁵ nicht reproduzierbare Werte erhielten. *Klein* (l. c.) folgt gleichfalls dem *Leipertschen* Grundprinzip. Die Jodsäure wird mit phosphoriger Säure reduziert, das Abdestillieren des Jods erfolgt in einer neu vorgeschlagenen Apparatur. Die hochleistungsfähige katalytische Jodidbestimmung erlaubt auch nach unseren Erfahrungen noch die Erfassung von 0,002 µg Jodid in der alkalischen Vorlage, wodurch der Autor mit 2 ml Plasma bzw. Serum das Auslangen findet. Die Bestimmung erfäßt das Gesamtjod bzw. das biologisch besonders interessierende eiweißgebundene Jod = PBI (protein bound Iodine) im Trichloressigsäure-Präzipitat.

Für unsere Untersuchungen stand uns eine Originalapparatur nach *Klein* (*Beckmann*) der Fa. Mollenkopf, Stuttgart, zur Verfügung. Trotz genauer Einhaltung der vom Autor gegebenen Arbeitsvorschrift gelang es uns nicht, analytisch exakte und verwertbare Ergebnisse zu erhalten. Wir beobachteten daher mit *Reese* und *Skrube* das Verfahren unter Heranziehung von ¹³¹I in seinen einzelnen Abschnitten (katalytische Jodbestimmung, Destillation bzw. Reduktion des bei der Veraschung freigelegten Jods, Veraschung). Wenn wir über die so gewonnenen Erfahrungen berichten (siehe auch *Spitzzy*²¹), wollen wir nicht zum „Blühen der Modifikationen“ (*Leipert*²²) beitragen, sondern Mißerfolge bei Anwendung des *Kleinschen* Verfahrens hintanhaltend und einige offene Fragen bei der Blutjodbestimmung aufzuklären versuchen. Dem Charakter dieser Mitteilung entsprechend berichten wir nur zusammenfassend:

1. Die katalytische Jodbestimmung entspricht den analytisch an sie gestellten Anforderungen. Noch 0,002 µg Jodid in 6,3 ml sind bestimmbar.

2. Die Reduktion der bei der Veraschung entstandenen Jodsäure und die Destillation in die alkalische Vorlage hielt unseren Überprüfungen nur zum Teil stand. Auch andere Autoren^{17, 20} bezeichnen diese Phase als kritisch. Bei der von *Klein*²⁰ angegebenen Destillationsdauer von 15 Minuten — in den ersten 5 Minuten Zusatz der phosphorigen Säure zur Reduktion — erhält man je nach Heizintensität Destillate von 8 bis 27 ml, Abb. 1.

Vor der Veraschung zugesetztes, markiertes Jodid mit Trägermengen von 0,2, 2,0 und 20,0 µg sowohl mit und ohne Serum, als auch zugesetztes markiertes Jodat nach der Veraschung mit und ohne Serum ergaben bei der konstanten Destillationsdauer von 15 Minuten Aktivitätsausbeuten von 56 bis 92%. Die Kurve nähert sich asymptotisch 100% und liegt bei dem von *Klein* angegebenen Destillatvolumen (10 bis 12 ml) bei nur 79%. Die Untersuchungen mit Radiojod ergaben ferner, daß 1,4 bis 2,0% an der Glasapparatur adsorptiv haften. Der jeweils auf 100% fehlende Rest wurde in der Veraschungslösung gefunden. Mehrfache Wiederholung der Destillation aus denselben Veraschungslösungen ohne neuerlichen Zusatz von Reduktionsmittel ergaben bei gleicher Destillationszeit und -Intensität bis zu dreimaliger Wiederholung noch erfaßbare Jodausbeuten. Erhöhter Zusatz von phosphoriger Säure sowie neuerliche Zugabe des Reduktionsmittels bei Destillationswiederholungen hatten gleich der Verwendung von Stickstoff als Trägergas keinen Einfluß. Auch mit anderen Reduktionsmitteln, wie arsenige Säure, Oxalsäure, konnten keine Verbesserungen erzielt werden.

Obwohl unsere auf 100% stimmenden Aktivitätsmessungen bereits zeigten, daß sich kein Jod der Absorption in der alkalischen Vorlage entzieht, folgten wir den viel diskutierten Vorschlägen von *Barker*¹⁸, *Thomas*¹⁷, *Kirkpatrick*²¹, der Vorlagenflüssigkeit Natriumsulfid bzw. Arsenit zur Reduktion zuzusetzen. Vergleichsmessungen mit ¹³¹I ergaben aber keinen Unterschied gegenüber der alleinigen Verwendung von Natronlauge.

Wir destillieren bei unseren Bestimmungen 15 Minuten bei solcher Heizintensität, daß Destillate von 18 bis 19 ml resultieren und vermehren auf Grund der gezeigten Ausbeutekurve die erhaltenen Werte um 10%.

3. *Moran*²⁸ stellt fest, daß Wasserstoffperoxyd — der schon reduzierten Veraschungslösung zugeführt — die Jodaubeute vergrößert und belegt dies mit erhöhten Werten, die er bei der katalytischen Jodbestimmung erhält. Der Autor sieht die Ursache darin, daß die Jodsäure durch Phosphit bzw. Arsenit nicht vollständig zu Jodwasserstoffsäure reduziert wird. Daher gelange Hypojodit, Jod und Jodwasserstoffsäure bei der Destillation in die alkalische Vorlage, wo sich Jodat neben Jodid und Hypojodit bildet. Jodat würde aber nach *Moran* (l. c.) durch die katalytische Jodbestimmung nicht erfaßt, wodurch zu niedere Jodwerte gefunden werden. Der Zusatz von Wasserstoffperoxyd bewirkt nun nach Meinung des Autors die vollständige Reduktion der Jodsäure in der Veraschungslösung zu Jodwasserstoffsäure, die durch die katalytische Jodbestimmung in der Vorlage quantitativ erfaßt wird.

Unsere Untersuchungen mit ¹³¹J führten hingegen zu dem Ergebnis, daß Wasserstoffperoxydzusatz die Jodaubeuten nicht erhöht und diese der Kurve in Abb. 1 folgen. Bei vergleichenden katalytischen Bestimmungen in wäßrigen Lösungen von Jodid und Jodat mit identischen Mengen Jod zeigte sich weiters, daß Jodat durch arsenige Säure bei dem gegebenen Säuregrad reduziert wird und damit gleichfalls quantitativ durch die Katalysereaktion erfaßbar ist (siehe auch *Zak* und Mitarbeiter⁵).

Die Gegenüberstellung von ¹³¹J-Ausbeuten und Werten der photometrischen Jodbestimmung ließ erkennen, daß unbekannte, die Katalysereaktion störende Substanzen, insbesondere bei wässrigen Jodlösungen und stark wasserhaltigen Materialien, in das Destillat übergehen (Tabelle 1).

Tabelle 1.

		ohne H ₂ O ₂	mit H ₂ O ₂ (1 ml 3,5%) mit H ₂ O ₂ (1 ml 17,5%) mit Glykokoll (3 ml 12%) mit Glykokoll (3 ml 12%) und H ₂ O ₂ (1 ml 3,5%)
I	Blindwert	20–75%	konstante Werte
	Gefundenes Jod nach Zusatz bekannter J-Mengen zum Destillat von I	20–80%	100%
II	Gefundenes Jod von bekannten Mengen Thyroxin, Dijodtyrosin, NaJ in wäßriger Lösung	20–75%	100% ± 10
	Gefundenes Jod nach Zusatz bekannter J-Mengen zum Destillat von II	20–80%	100%

Zusätze von bekannten Jodidmengen zur Vorlageflüssigkeit stellten dies unter Beweis. Setzten wir nach *Moran* (l. c.) Wasserstoffperoxyd nach der Reduktion zu, so war eine Beseitigung dieser störenden Einflüsse festzustellen. Deren Ausmaß variierte mit dem Volumen der zur Destillation gelangenden Veraschungslösung und zeigte sich auch abhängig von der Dauer und angewandten Temperatur bei der Veraschung. Wie aus der Tabelle 1 weiter hervorgeht, erübrigt ein Wasserstoffperoxydzusatz auch die Zugabe eines organischen Trägers bei der Jodbestimmung in stark wasserhaltigen Materialien — in der Regel Glykokoll. Zahlreiche Autoren beobachten, daß bei der Jodbestimmung in solchen Proben ohne Zusatz organischer Substanz in der Größenordnung des Serums Jodverluste von 15 bis 100% auftreten (*Klein*²⁹, dort auch andere Literatur).

Aus dem Gesagten ergibt sich, daß wir den Blindwert bei unseren Bestimmungen stets durch Zusatz von Wasserstoffperoxyd ermitteln und kontrollieren. Bei sorgfältig gereinigten p. a.-Reagenzien (Merck) finden wir etwa 0,036 µg Jod und liegen damit übereinstimmend mit *Middleworth*²⁷ und entgegen *Klein*³⁰ in der Größenordnung der in der

Regel in den Proben zu bestimmenden Jodmengen. Gegenüber konstanten Werten bei Zusatz von Wasserstoffperoxyd bzw. Glykokoll erhalten wir ohne diesen schwankende Werte (Tabelle 1).

4. Zur Klärung, ob bei der sauren offenen Veraschung durch Schwefel- und Chromsäure, wie mehrfach besonders bei stark wasserhaltigen Materialien behauptet wird, Jodverluste entstehen, prüften wir auch diese Frage mit Radiojod in verschiedener Weise. Es ergab sich insbesondere, daß bei den Bedingungen von *Klein*³⁰ und *Moran*²⁸ kein Jod verlorenggeht. Überschreitet man die dabei erhaltenen Maximaltemperaturen und verascht sogar bis 250°C weiter, so ist noch immer alles Jod in der Veraschungslösung auffindbar. Dies trifft für Jod sowohl in anorganischer als auch in organischer Bindung zu. Mit dieser Feststellung und durch unsere Ausbeutekurve aus wässrigen Jodidlösungen (Abb. 1) bestätigt, glauben wir, die von *Klein*³³ vertretene Ansicht hinreichend widerlegt zu haben, wonach der Kohlenstoff der organischen Verbindungen (z. B. Glykokoll) als Adsorbens für das Jod gebraucht wird, damit bei dessen stufenweiser Oxydation bis zur Jodsäure kein J₂ entweichen kann.

Nesh und *Peacock*²⁹ schlagen zur quantitativen Bestimmung von eiweißgebundenem Jod nach der Methode von *Barker*⁵ vor, radioaktives Jodid zum gelösten Proteinpräzipitat zuzusetzen und durch γ -Strahlenmessung im Destillat den Jodwert, den sie bei der kolorimetrischen Jodbestimmung erhalten, zu berichtigen. Unsere Untersuchungen zeigen, daß eine Korrektur des am Photometer abgelesenen Jodwertes durch Ausbeutebestimmungen mit Radiojod nur bedingt zulässig ist, da sie etwaige störende Substanzen bei der katalytischen Reaktion nicht berücksichtigt. Dem Vorgehen von *Caraway*²⁶, einem Anteil des bei der Bestimmung anfallenden Destillates eine bekannte Jodidmenge zuzusetzen, ist ebenfalls nur beschränkt zuzustimmen; allfällige Hemmungen bzw. Förderungen der katalytischen Reaktion können so weitgehend in Rechnung gesetzt werden, doch bleibt die bei der Destillation erhaltene Jodausbeute unberücksichtigt.

Durch Beachtung all dieser Umstände gelang es uns, die Bestimmung des Gesamt- und eiweißgebundenen Jods sowohl in Serum als auch in stark wasserhaltigen Materialien in unsere experimentellen Untersuchungen mit Erfolg einzubauen. Besonderes Augenmerk ist dabei auf die völlige Jodfreiheit der verwendeten Glasgefäße und Geräte zur Blutabnahme zu richten. Die Normalwerte des Gesamtjods im Serum finden wir von 4 bis 10 $\mu\text{g}\%$, wovon 3,5 bis 8 $\mu\text{g}\%$ durch Trichloressigsäure fällbar sind. Damit schließen wir uns den seit Jahren als real angesehenen „niederen“ Blutjodwerten an und können auf Grund unserer eingehenden Untersuchungen mit Radiojod den kürzlich von *Schiltenshelm* und *Bauer*³⁴ abermals zur Diskussion gestellten „hohen“ Jodwerten im Serum (30 $\mu\text{g}\%$) nicht beipflichten.

Im Vorjahr (1954) publizierte *Klein*³⁵ eine einfache Methode zur Bestimmung des anorganischen Blutjods, die auf direktem Ansatz der katalytischen Jodbestimmung im Flüssigkeitsüberstand des mit Trichloressigsäure ausgefällten Serumeiweißsedimentes beruht. Dies bedeutet eine wesentliche Vereinfachung; wurde doch bislang das anorganische Blutjod als Differenz aus Gesamtjod und eiweißgebundenem Jod rechnerisch ermittelt, wodurch zwei Bestimmungen mit Veraschung und Destillation erforderlich waren. Dieses Schnellverfahren hat sich bei uns bewährt, doch ist in Ergänzung zu *Klein* (l. c.) darauf zu achten, daß Serum von sich aus — offenbar durch reduzierende Substanzen — in der Lage sein kann, Cerilösungen zu entfärben. Dieser Umstand ist in Rechnung zu setzen.

Auch die direkte Bestimmung des Harnjodids ist auf dieser Basis nach unseren Untersuchungen bei Ausscheidungen von mehr als etwa 1 mg im 24-Stunden-Harn möglich.

Über die Leistungsfähigkeit der einzelnen Methoden geben Beispiele in Tabelle 2 Aufschluß. Daraus ist zu entnehmen, daß die Jodbestimmung auch in Gegenwart von erheblicher Menge Trichloressigsäure bei richtig geleiteter Veraschung möglich ist.

Tabelle 2.

Kälberserum	Gesamt-Jod		Eiweißgebundenes Jod	
	µg	µg %	µg	µg %
0,5 ml	0,043	8,6	0,035	7,0
0,5 ml + 0,08 µg J als Thyroxin	0,124	—	—	—
1,0 ml	0,085	8,5	0,062	6,2
2,0 ml	0,175	8,8	0,125	6,3
3,0 ml	0,260	8,7	0,190	6,3
Einfluß von Trichlor-essigsäure (TE), vor der Veraschung zuge- setzt	1,8 ml 68%ige TE mit H ₂ O ₂		ohne TE mit H ₂ O ₂	
Blindwert	0,036 µg J		0,035 µg J	
0,4 µg J als Thyroxin ...	0,38 µg J		0,42 µg J	
Harn	µg J bei direkter katalytischer J ⁻ -Bestimmung		µg J bei Bestimmung durch Destillation (H ₂ O ₂ -Zusatz)	
4 ml (1 : 1000)	0,016		0,016	
4 ml (1 : 200)	0,081		0,084	

Ein Beispiel der praktischen Anwendung der hier nur skizzierten Verfahren zeigt Abb. 2.

Zum Studium des Verhaltens von anorganischem und organisch-gebundenem Serumjod sowie des Harnjodids bei einer Trinkkur wurde durch 8 Tage (F. W., ♂, 28a, Glaskörpertrübung) je 10 mg Jodid (als NaJ) markiert mit 8 µC ¹³¹J in 100 ml 0,9%iger Kochsalzlösung täglich verabreicht. Die Bestimmung des Harnjodids erfolgte durch direkte katalytische Reaktion in Verdünnungen (1 : 250 bis 1 : 1000) und wurde jeweils durch Aktivitätsmessung auf ihre Richtigkeit geprüft. Das verabreichte Jodid wird innerhalb von 24 Stunden — wie bekannt — fast zur Gänze ausgeschieden. Bemerkenswert ist das Absinken des organisch gebundenen Jods von 6,6 µg % auf 3,9 µg % (*Plummer-Effekt*) im Verlauf von 8 Tagen und besonders die Feststellung, daß eine akute Jodidgabe (10 mg) innerhalb von 9 Stunden den Gehalt an eiweißgebundenem Jod (PBI) im Serum auf die Hälfte zu vermindern in der Lage ist.

Die ausführliche Darstellung der Untersuchungsergebnisse sowie der genauen Arbeitsvorschriften wird in Kürze erfolgen.

Zusammenfassung.

Nach einer einleitenden Übersicht über die prinzipiellen Möglichkeiten zur Jodbestimmung in biologischem Material und ihre methodische Bearbeitung in den letzten Jahren werden zusammenfassend Beobachtungen allgemeiner Art bei der Erfassung des Blutjods und seiner Fraktionen, sowie im besonderen Erfahrungen mit der Methode nach *Klein* mitgeteilt. Durch unverwertbare Ergebnisse veranlaßt, wurden die einzelnen Phasen dieser Jodbestimmung — Katalysereaktion, Destillation bzw. Reduktion des bei der Veraschung freigelegten Jods, Veraschung — mit ¹³¹J kontrolliert. Die so ermittelte Ausbeutekurve für Jod ergibt bei 15 Minuten während der Destillation in der alkalischen Vorlage, 10 bis 12 ml nach *Klein*, nur 79% der vorgegebenen Jodmenge. In der Literatur vorgeschlagene Zusätze von Reduktionsmitteln zur alkalischen Vorlageflüssigkeit sind dabei ohne Einfluß. Wasserstoffperoxyd (*Moran*) bewirkt keine Ausbeutesteigerung, sondern verhindert das Übergehen unbekannter, die Jodkatalysereaktion störender Substanzen. Weiters erübrigt sein Zusatz unmittelbar nach Reduktion der in der Veraschungslösung enthaltenen Jodsäure das Vorhandensein organischer Trägersubstanz bei der Jodbestimmung in stark wasserhaltigen Materialien. Auch bei der sauren Veraschung solcher Proben entstehen im Gegensatz zu anderen Autoren selbst bei Temperaturen bis 250° C keine Jodverluste. Zur Ermittlung des Blindwertes der Bestimmung ist die Zugabe von Wasser-

stoffperoxyd nach der Reduktion oder Glykokoll vor der Veraschung erforderlich. Er beträgt bei sorgfältig gereinigten p. a.-Reagenzien (Merck) etwa 0,036 μg Jod.

Die Ergebnisse bestätigen abermals die „niederen“ Serumjodwerte (4 bis 10 $\mu\text{g}\%$, davon 3,5 bis 8 $\mu\text{g}\%$ durch Trichloressigsäure fällbar) entgegen Schüttenhelm und Bauer (30 $\mu\text{g}\%$).

Eine praktische Anwendung (Trinkversuch über 8 Tage) der Bestimmung von anorganisch und organisch gebundenem Jod im Serum, sowie einer neuen Schnellmethode zur Erfassung des Harnjodids (direkte Jodkatalysereaktion in Harnverdünungen, von mehr als etwa 1 mg Jodid im 24-Stunden-Harn anwendbar) stellen unter Berücksichtigung der gewonnenen Erfahrungen die Brauchbarkeit der Verfahren unter Beweis.

Literatur.

- ¹ Th. v. Fellenberg, *Ergebn. Physiol.* **25**, 176 (1926).
- ² S. B. Barker und M. J. Humphrey, *J. Clin. Endocrinology* **10**, 1136 (1950); *J. Clin. Investigation* **30**, 55 (1951).
- ³ H. Brown, A. M. Reingold und M. Samson, *J. Clin. Endocrinology* **13**, 144 (1953).
- ⁴ W. N. Harsha, *Amer. J. Med. Sci.* **221**, 626 (1951).
- ⁵ B. Zak, H. W. Willard, G. B. Myers und A. J. Boyle, *Analyt. Chemistry* **24**, 1345 (1952).
- ⁶ L. W. O'Neal und E. S. Simms, *Amer. J. Clin. Pathol.* **23**, 493 (1953).
- ⁷ E. B. Sandell und I. M. Kolthoff, *Mikrochim. Acta* [Wien] **1**, 9 (1937).
- ⁸ Th. Leipert, *Biochem. Z.* **261**, 436 (1933); **270**, 448 (1934); **280**, 416 (1935).
- ⁹ A. Sturm, K. Plötner und K. Maass, *Biochem. Z.* **280**, 396 (1935).
- ¹⁰ E. Klein, *Endocrinologie* **27**, 22 (1950).
- ¹¹ M. K. Zacherl und W. Stöckl, *Mikrochim.* **38**, 278 (1951).
- ¹² A. L. Chaney, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **12**, 179 (1940).
- ¹³ N. B. Talbot et al., *J. Biol. Chem.* **153**, 479 (1944).
- ¹⁴ A. Taurog und I. L. Chaicoff, *J. Biol. Chem.* **163**, 313 (1946).
- ¹⁵ S. B. Barker, *J. Biol. Chem.* **173**, 715 (1948).
- ¹⁶ A. C. Connor et al., *Surgery* **25**, 510 (1949).
- ¹⁷ J. W. Thomas et al., *Analyt. Chemistry* **22**, 726 (1950).
- ¹⁸ B. K. Shahrokh und R. M. Chresbo, *Analyt. Chemistry* **21**, 1003 (1949).
- ¹⁹ F. Lachiver und J. Leloup, *Bull. soc. chim. biol.* **31**, 1128 (1949).
- ²⁰ A. L. Chaney, *Analyt. Chemistry* **22**, 939 (1950).
- ²¹ H. F. W. Kirkpatrick, *Analyst* **78**, 348 (1953).
- ²² H. Sobel und S. Sapsin, *Analyt. Chemistry* **24**, 1829 (1952).
- ²³ G. H. Ellis und G. D. Duncan, *Analyt. Chemistry* **25**, 1558 (1953).
- ²⁴ C. Nieman et al., *Chemist-Analyst* **42** (1953).
- ²⁵ E. A. Carr et al., *Science* **111**, 552 (1950).
- ²⁶ W. T. Caraway, *J. Clin. Endocrinology* **12**, 1215 (1952).
- ²⁷ L. V. Middlesworth et al., *Federation Proc.* **12**, 147 (1952).
- ²⁸ J. J. Moran, *Analyt. Chemistry* **24**, 378 (1952).
- ²⁹ F. Nesh und W. C. Peacock, *Analyt. Chemistry* **22**, 1573 (1950).
- ³⁰ E. Klein, *Biochem. Z.* **322**, 388 (1952); *Röntgen- und Laboratoriums-praxis* VI, H. 5, S. 120.
- ³¹ H. Spitz, *Mikrochim. Acta* [Wien] **1955**, 130.
- ³² Th. Leipert, *Mikrochim. Acta* [Wien] **3**, 91 (1938).
- ³³ E. Klein, *Biochem. Z.* **323**, 275 (1952).
- ³⁴ A. Schüttenhelm und J. Bauer, *Z. ges. exp. Med.* **119**, 45 (1952).
- ³⁵ E. Klein, *Biochem. Z.* **326**, 9 (1954).

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/67.

Zeilenanzahl: 163.

Instituto Geológico y Minero de España, Madrid.

Valoración espectrográfica de rubidio y estroncio en las micas.

Por

Juan Manuel López de Azcona.

Con 1 figura.

(Recibido el 11 de mayo de 1955.)

1º Preparación de la muestra.

A la muestra de mica seleccionada, se le separan todas las partes que pueden haber estado en contacto con la atmósfera, corrientes acuosas o fenómenos que la alteran. La parte restante, se lava con agua destilada para desprender cualquier partícula de polvo o sustancia que tenga adherida. Efectuada esta primera limpieza, se porfiriza a 150μ y trata con agua destilada, para eliminar cualquier impureza soluble en la misma. Se lava a continuación con ácido sulfúrico (4%) y deja secar.

La cantidad de 0,1 g de muestra limpia y seca se trata con ácido fluorhídrico (40%) y perclórico (70%) en la cantidad de 3 ml del primero y 1 ml del segundo. Se lleva a sequedad a una temperatura de 110°C y se repite la operación.

El residuo seco se mezcla intimamente con 0,1 g y se preparan electrodos comprimidos de 3 mm de diámetro sometidos a una fuerza total de 200 kg.

2º Condiciones de excitación.

El espectrógrafo utilizado es un Qu 24, en el que se tiene que determinar el diafragma previo y el ancho de la rendija. Como las líneas que se utilizan para la valoración son las Rb I 4201,85 y Sr II 4077,71 teníamos un interés especial en eliminar toda influencia de fondo sin pérdida de sensibilidad y para ello comprobamos que las condiciones óptimas son, un diafragma previo de 1,2 mm y un ancho de rendija de 0,010 mm.

Se procuró dar a los electrodos unas dimensiones adecuadas, para que el consumo de grafito fuese el mínimo, las que se aprecian en la figura. En el taladro practicado en el grafito entra perfectamente ajustado el comprimido, que previamente se cortó a 2 mm de espesor por medio de un patrón plástico transparente. Al tener invariables el diámetro y el espesor, el volumen de muestra consumida es siempre del mismo orden.

La excitación es por arco, con corriente continua a 240 V, y 5 A colocando el comprimido en el electrodo inferior, que es el positivo y dando una separación entre la muestra y electrodo superior de 3 mm. Con el fin de iniciar, el arco y poderlo mantener, existe una excitación simultánea por alta frecuencia, que se puede apreciar en el adjunto esquema. Los dos circuitos de excitación son automáticos, con una duración en segundos del proceso de excitación, según programa fijado previamente en el reloj.

Se comprobó por desplazamiento de la emulsión fotográfica, que en el rubidio se inicia la excitación al tercer segundo con un máximo del 6° al 9° cesando casi totalmente de emitir hacia el 12° y que en el estroncio, también se inicia la emisión en el 3° segundo con un máximo del 6° al 12° y que a partir del 25° segundo de excitación, la emisión producida por este elemento no tiene valor significativo, por ello se fijó en 25 segundos la duración total de la emisión.

3º Preparación de las escalas patrón.

En las únicas micas en que se pretende efectuar las valoraciones es en las muscovitas, por ello se preparó una mica artificial con la composición

media de todos sus elementos, salvo el silicio.

Dichos elementos se pusieron al estado de cloruros, en los cuales se comprobó previamente la carencia de rubidio y estroncio. Se omitieron el calcio y el bario, por utilizar estos dos elementos como índice de contaminación de las muscovitas por estroncio común.

Las cantidades de cada uno fueron las necesarias, para que la muestra teórica, a la que supusimos se le había añadido la sílice necesaria, tuviese para cada uno de los elementos las siguientes proporciones;

Na — 0,8%, K — 6%, Mg — 0,3%, Mn — 0,2%, Fe — 0,04% y Al — 18%.

A la mezcla íntima de los cloruros se les dió el mismo tratamiento que a las micas naturales con ácidos fluorhídrico y perclórico, pero una sola vez.

Analizamos esta mica sintética y a pesar de todas las precauciones que tomamos, dió un contenido de 0,01% de rubidio y de 0,0007% de estroncio. En su espectrograma también se aprecian claramente las líneas del calcio, de las cuales la Ca I 4226,73 es muy útil para la valoración más precisa del rubidio y del estroncio.

Las escalas de rubidio y estroncio, se prepararon solamente entre los límites que son normales en las muscovitas de la Península Ibérica, o sea para el Rb de 0,07 a 0,45% y de Sr de 0,001 a 0,015%. En ellas el valor máximo del estroncio es superior al correspondiente del rubidio, pero se adoptó dicho límite para poder valorar ambos elementos en los casos de contaminación de la muestra con estroncio común.

Las concentraciones por % de cada término son las siguientes;

Término	Rb	Sr
0	0,450	0,015
1	0,300	0,010
2	0,225	0,006
3	0,150	0,003
4	0,100	0,002
5	0,085	0,001
6	0,070	—

La corrección que se efectúa por medio del calcio, consiste en suponer que el valor de las densidades de ennegrecimiento de las líneas del calcio son constantes, por permanecer invariable su concentración. Se toma como valor óptimo, la media geométrica de las que quedan después de desechar los espectrogramas que presentan anomalías o que no tuvieron una emisión perfecta. La corrección que se introduce, es geométrica para la desviación de cada elemento. Como ejemplo, se da la efectuada para el término 4° del rubidio.

Término	I Rb	log I Rb	log I Rb corregi	media aritm	dispersión	I Ca	log I Ca	Diferencia del medio
Rb 4	464	2,667	2,677	2,678	0,001	421	2,624	0,010
Rb 4	468	2,670	2,677		0,001	424	2,627	0,007
Rb 4	475	2,677	2,681		0,003	427	2,630	0,004
media del Ca						430	2,634	

Con esta corrección, se ha reducido la dispersión máxima en la escala, de 0,006 a 0,003 o sea que el error ha pasado del 1,4% al 0,7%.

Con las medidas de los valores rectificadas, se trazaron las curvas que relacionan para el rubidio y para el estroncio los logaritmos de las concentraciones y de las intensidades.

4° Valoración Sr/Rb.

Los espectrogramas de las micas, se obtienen cinco veces consecutivas y si existe alguna anomalía en la emisión o se aprecian diferencias imprevistas en el fotometrado, se desecha el espectrograma correspondiente. Con la media aritmética de los logaritmos de las desviaciones, se deducen sobre las curvas de calibración los logaritmos de las correspondientes concentraciones del Sr y Rb y sus diferencias dan el logaritmo del cociente.

En las valoraciones del estroncio y rubidio, no se efectúan correcciones por no ser necesarias, ya que el valor que interesa es el cociente de ambos,

y por ello quedan compensadas las pequeñas diferencias debidas a las variaciones de la emisión.

Uno de los fines perseguidos en todo momento, es reducir al mínimo el consumo de muestra, el peso de cada comprimido es de 30 mg, pero como la mitad es cloruro amónico, corresponde a la mica preparada 15 mg, o sea a las 5 determinaciones 75 mg, por lo que se parte de 0,1 g de mica.

Como ejemplo de los resultados obtenidos, damos el correspondiente a unas chimeneas pegmatíticas de Sierra Albarrana (Cordoba). Para datar esta formación se disponia de unas uraninitas y unas muscovitas, estas contemporaneas de aquellas, o ligeramente anteriores, los valores deducidos fueron.

Edad de las uraninitas, por el método del plomo < 280 m. de a.

Edad de las muscovitas, por la relación. Sr/Rb . . . 280 m. de a.

Como se vé ambos valores son totalmente concordantes, lo que demuestra la utilidad y precisión de la técnica descrita para la valoración de la relación Sr/Rb.

Resumen.

Se persigue con este trabajo, la determinación de la relación Sr/Rb en las micas, con el empleo de la menor cantidad posible de mineral 0,1 g, con el fin de su datación por medio de la fórmula

$$t = T_{Rb} \times 3,1 \times 10^{11} \times Sv/Rb. a.$$

Para calcular esta relación es necesario; 1° Preparar y tratar la muestra para que esté en condiciones de poderla excitar. 2° Estudio de las condiciones de excitación con el fin de que la emisión sea la más adecuada para la reducción al mínimo de los errores. 3° Preparación de escalas patrón de rubidio y estroncio. 4° Técnica para determinar la valoración.

Zusammenfassung.

Zum Zwecke der Altersbestimmung von Glimmer wird das Verhältnis Sr/Rb unter Verwendung kleinster Substanzmengen (0,1 g) spektralanalytisch ermittelt und mit Hilfe der Formel $t = T_{Rb} \times 3,1 \times 10^{11} \times Sv/Rb$ I. ausgewertet. Für die Bestimmung des Verhältnisses Sr/Rb ist notwendig: 1. Entsprechende Vorbereitung der Proben für die spektroskopische Bestimmung, 2. Ermittlung reproduzierbarer Anregungsbedingungen, 3. Aufstellung von Eichkurven für Rb und Sr, 4. Auswertung.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/68.

Zeilenanzahl: 247.

Aus dem Institut für Verfahrenstechnik und Technologie der Brennstoffe
an der Technischen Hochschule in Wien.

Über die Anwendung des Gegenstromprinzips in der Mikrogasanalyse.

Von

Kurt Peters.

Mit 3 Abbildungen.

(Eingelangt am 12. Mai 1955.)

Bei Versuchen über die mechanochemische Zersetzung und Oberflächendissoziation von Carbonatmineralien¹ ergab sich die Notwendigkeit, außerordentlich kleine Kohlendioxidmengen, die von einem inerten Gasstrom bei der Zersetzung der Carbonate bei sehr niedrigen Temperaturen zwischen 20° und 100°C mitgetragen werden, fortlaufend quantitativ zu erfassen. Es hatte sich gezeigt, daß ein qualitativer Nachweis sehr einfach durch die Trübung einer kleinen Menge Barytlauge in einem Blasenähler möglich war. Für die quantitative Bestimmung erwiesen sich aber alle in der Literatur beschriebenen Methoden als unzureichend oder als zu kompliziert.

In der Verfahrenstechnik der chemischen Industrie bedient man sich mit bestem Erfolg seit sehr langer Zeit zur quantitativen Absorption kleiner löslicher Beimengungen aus Gasen des Gegenstromprinzips: Das aufwärtsströmende Gas wird mit dem abwärtsfließenden Absorptionsmittel im Gegenstrom so „ausgewaschen“, daß das Gas am Eingang, wo es relativ viel lösliche Bestandteile enthält, mit verbrauchtem oder gesättigtem Absorptionsmittel zusammentrifft und auf dem Weg durch den Wasserturm immer mehr an löslichen Bestandteilen verarmt, um vor dem Verlassen des Apparates mit ganz frischer Absorptionslösung in Berührung zu kommen, die alles Lösliche quantitativ absorbiert.

Die meist in der Gasanalyse üblichen Absorptionsmethoden arbeiten zur vollständigen Auflösung des zu bestimmenden Gasbestandteiles mit einem sehr großen Überschuß an Absorptionsflüssigkeit, wie z. B. bei den üblichen Absorptionspipetten, Waschflaschen oder Zehnkugeln. Wenn die absorbierte Gasmenge aber zu klein ist, um volumetrisch erfaßbar zu sein, oder wenn die Menge der zur Absorption verwendeten Flüssigkeit zu groß ist, um aus der Veränderung ihrer Eigenschaften quantitative Schlüsse auf die Art und Menge der gelösten Gase zu ziehen, so führt die Anwendung des Gegenstromprinzips mit wenigen Tropfen Absorptionsmittel zu sehr brauchbaren Analysemethoden.

Die im folgenden beschriebene Arbeitsweise mit dem „Gegenstrom-Tropfenrohr“, genügt zur quantitativen und kontinuierlichen Analyse löslicher Bestandteile in Gasströmen in vielen Fällen allen Anforderungen hinsichtlich Genauigkeit, Schnelligkeit und Einfachheit.

Für den qualitativen Nachweis von Spuren gasförmiger Stoffe, die durch Absorption in der Lösung eine Trübung oder Verfärbung eines Indikators bewirken können, ist schon vor langer Zeit von Feigl und Krumholz² ein Mikroapparat (Abb. 1) angegeben worden, bei dem in einem kleinen Gefäß von wenigen Milliliter Inhalt, in dem das fragliche Gas entwickelt wird, an einer kleinen Glaskugel ein Tropfen Absorptionsflüssigkeit hängt.

Wenn an diesem Mikroapparat Gaszu- und -ableitungsröhrchen angebracht sind, wie aus Abb. 1b ersichtlich*, so ist er auch für den quali-

* Die Überlassung solcher Apparate aus dem Institut für anorganische

und analytische Chemie der Technischen Hochschule Wien verdanke ich Herrn Prof. Dr. R. *Strebinger*.

tativen Nachweis von Spuren reaktionsfähiger Bestandteile in strömenden Gasen geeignet, sofern die Raumluft nicht selbst Beimengungen der gleichen Art enthält.

Um die Absorption von sehr kleinen Mengen Kohlendioxyd aus einem Gasstrom kontinuierlich und quantitativ zu gestalten, waren folgende Anforderungen zu erfüllen:

1. das Absorptionsmittel mußte sehr verdünnt sein und unter sorgfältigem Ausschluß von Luft gehandhabt werden;

2. das Absorptionsmittel sollte eine gute Löslichkeit für Kohlendioxyd haben und einen deutlichen Farbumschlag bei Sättigung zeigen, der gut sichtbar gemacht werden mußte;

3. wegen der geringen zu erwartenden Kohlendioxydmengen sollte mit einer sehr kleinen, möglichst nur wenige Tropfen betragenden Menge Absorptionsmittel gearbeitet werden.

Die Anwendung des technisch bewährten Gegenstromprinzips schien zur Entwicklung einer Methode der Mikrogasanalyse, die obigen Anforderungen entspricht, sehr geeignet.

Zu diesem Zweck wurde zunächst in einfachster Glasbläserarbeit das in Abb. 2 rechts dargestellte „Zehntropfenrohr“ gebaut. Es genügte bereits weitgehend den gestellten Anforderungen und konnte zur quantitativen Klärung einiger mechanochemischer Probleme benutzt werden³.

Dieser neuen mikroanalytischen Methode liegt folgende Arbeitsweise zugrunde:

Durch einen unteren seitlichen Ansatz 3 des „Gegenstromrohres“ wird das zu untersuchende Gas bei gewöhnlichem Druck in langsamem Strom eingeleitet und verläßt das Rohr durch den oben seitlich angebrachten Stutzen 4. Die Menge dieses Gases wird in üblicher Weise z. B. durch ein Strömungsmanometer oder dadurch gemessen, daß man das Gas hinter dem Absorptionsrohr in einer Mariotteschen Flasche sammelt, bei der man die ausfließende Menge Sperrflüssigkeit mißt.

In dem Gegenstromrohr befinden sich, wie aus der Zeichnung ersichtlich, übereinander an einem Glasstab befestigt, 10 tropfenförmige Glaskörper. Durch ein zu einer Spitze ausgezogenes Zuleitungsrohr am oberen Ende hat man die Möglichkeit, aus einer Dosiervorrichtung mit Mikroburette kontinuierlich unter vollkommenem Ausschluß von Außenluft genau gemessene, sehr kleine Mengen Absorptionsmittel so einfließen zu lassen, daß an jedem der 10 Glastropfen ein Tropfen der mit einem Indikator angefärbten Absorptionsflüssigkeit hängt. Wenn durch die zufließende Absorptionsflüssigkeit der am obersten Glaskörper hängende Tropfen so groß wird, daß er abtropft, dann wird der am zweiten Glaskörper hängende Tropfen verdrängt usw., so daß der Eindruck entsteht, daß ein Tropfen wie an einer Leiter herunterklettert, so daß schließlich von dem untersten Glaskörper ein Tropfen Absorptionsflüssigkeit herunterfällt.

Man kann nun die Menge der zutropfenden Absorptionsflüssigkeit so einstellen, daß z. B. eine durch Phenolphthalein rot gefärbte 0,01-n Natriumcarbonatlösung während des Heruntertropfens durch die Absorption des aus dem strömenden Gas absorbierten Kohlendioxyds vollkommen entfärbt wird. Das Verhältnis der Geschwindigkeit des Gasstromes zur Menge der zutropfenden Absorptionsflüssigkeit läßt sich dabei sehr einfach so einregulieren, daß sich ein stationärer Zustand einstellt, bei dem die obersten Tropfen in der Röhre immer rot sind, nach unten zu blässer werden und der unterste vollkommen farblos abtropft.

Mit dieser Anordnung konnte in sehr einfacher Weise der zeitliche Verlauf der bei der mechanochemischen Zersetzung von Carbonatmineralien entwickelten, sehr kleinen Kohlendioxydmengen studiert werden. Bruchteile von hundertstel Millilitern Kohlendioxyd waren noch einwandfrei erfaßbar.

Zu diesem Zweck wurden gasdicht gemachte Kugelmöhlen mit Gaszu- und -ableitungen versehen und mit einem Strom von kohlen-

dioxydfreiem Wasserstoff oder Stickstoff gespült, der anschließend das „Zehntropfenrohr“ passierte. Auch die Oberflächendissoziation von Carbonatmineralien wurde mit Hilfe dieser Methode näher untersucht. Das z. B. in einer Reibschale frisch zerkleinerte Carbonatmineral wurde in den oberen Teil o des in Abb. 2 gezeichneten U-Rohres eingefüllt und nach Schließen des Hahnes 2 und leichtem Öffnen des Gummiverschlusses *V* durch Spülen mit CO₂-freiem Wasserstoff von atmosphärischer Luft befreit. Dann wurde der Verschluß *V* voll geöffnet, so daß das Carbonatpulver in das U-Rohr fiel, das Ventil *V* geschlossen und Hahn 2 geöffnet. Das bei Hahn 3 in das Zehntropfenrohr einströmende Gas konnte nun nur Kohlendioxyd enthalten, das vom Carbonat bei Raumtemperatur abdissoziiert war. Der große Einfluß der Temperatur auf diese Reaktion konnte durch Eintauchen des Rohres *U* in warmes Wasser untersucht werden. Bei sehr sorgfältig ausgeführten Vergleichsversuchen mit Luft, die etwa 0,03 Vol.-% Kohlendioxyd enthält, hat sich bald gezeigt, daß die Absorption manchmal nicht ganz vollständig ist, sondern daß z. B. nur etwa 90 bis 95% des Kohlendioxyds analytisch erfaßt wurden und 5 bis 10% verloren gingen, wie durch einen nachgeschalteten Blasen-zähler mit Barytlauge an der Trübung zu erkennen war. Auch mit zwei hintereinander geschalteten Zehntropfenrohren war die Absorption noch nicht ganz vollständig. Es wurden deshalb gemeinsam mit *W. Löffler*⁴ Untersuchungen zur Ermittlung der günstigsten Arbeitsbedingungen durchgeführt. Dabei stellte sich heraus, daß der geschwindigkeitsbestimmende Vorgang bei der Gasabsorption in Flüssigkeiten nicht, wie vielfach angenommen wird, der Absorptionsvorgang an der Oberfläche ist, sondern daß die Diffusion bzw. Durchmischung der Flüssigkeit unter Umständen der langsamste und damit der geschwindigkeitsbestimmende Vorgang ist.

Man kann dies sehr schön bei großen frei hängenden Tropfen Natriumcarbonatlösung beobachten, die mit Phenolphthalein rot gefärbt sind. Hängt man einen solchen Tropfen an einen entsprechend geformten Glaskörper in einen sehr langsamen Luftstrom, so sieht man, wie bei dem Tropfen zunächst eine äußere Schicht blasser und schließlich farblos wird, während noch lange Zeit im Inneren ein rot gefärbter Kern erhalten bleibt. Je größer der verwendete Tropfen ist, um so deutlicher zeigt sich das beschriebene Phänomen.

Kleine Tropfen absorbieren, wie man übrigens schon seit langem weiß, sehr viel schneller als große. Dieser Effekt wurde bisher meist der größeren spezifischen Oberfläche der kleineren Tropfen und der damit vergrößerten Oberflächenabsorption zugeschrieben. Dieser Effekt wird aber überlagert von den Diffusionsvorgängen in der Flüssigkeit, die sehr langsam sind und für den Gesamtvorgang geschwindigkeitsbestimmend werden können, wenn keine starke Konvektion vorhanden ist. Man muß deshalb bestrebt sein, der Absorptionsflüssigkeit nicht nur eine möglichst große Oberfläche, sondern auch eine möglichst geringe Schichtdicke zu geben, sie also nach Möglichkeit in einen sehr dünnen Film aufzulösen.

Auch der Diffusionsweg des Gases im Gegenstromrohr zum Absorptionsmedium ist von großem Einfluß auf die Absorptionsgeschwindigkeit und, wie erwartet, haben Versuche ergeben, daß kleinere Rohrdurchmesser wesentlich günstiger sind als große. Die Tropfkörper aus Glas wurden deshalb, um Raum zu sparen, wie aus Abb. 3 ersichtlich, direkt an der Glaswand angeschmolzen. Eine nachgeschaltete Spirale, wie sie in der Abb. 3 oben zu sehen ist, an der die Absorptionsflüssigkeit als Film herunterfließt, hat den Absorptionseffekt ganz wesentlich verbessert.

Die Absorption an kleineren Tropfen und an dem Flüssigkeitsfilm an der Glasspirale erwies sich als so viel besser als bei den einfachen Tropfkörpern, daß es mitunter vorkam, daß sich der oberste an der Spirale hängende Tropfen früher entfärbte als die darunter hängenden Tropfen.

Es wurde deshalb schließlich als endgültiges Modell ein Apparat gebaut, bei dem jeder einzelne Tropfkörper aus einer kleinen Glasspirale besteht, wie sie in Abb. 3 oben dargestellt ist, an der die Absorptionsflüssigkeit als Film herunterläuft und die jeweils in einem Glas-tropfkörper endet, an dem sich der Flüssigkeitstropfen sammelt, so daß man

an zehn untereinander angeordneten Stellen in dem Apparat sehr deutlich die Verfärbung des Indikators verfolgen kann.

Mit diesem Spiraltropfrohr ist eine quantitative Absorption auch kleinster löslicher Verunreinigungen in Gasen gewährleistet. Es wurden bisher folgende vier quantitativen Analysenverfahren ausgearbeitet.

1. Die Absorption von Kohlendioxyd aus Luft oder anderen Gasen mit alkoholischer Barytlänge.

2. Die Bestimmung von Kohlenoxyd in der Luft. Diese wird in genau der gleichen Weise durchgeführt wie die Kohlendioxydbestimmung, nur mit dem Unterschied, daß die Luft vorher über erhitztes Kupferoxyd als Katalysator geleitet wird, um das Kohlenmonoxyd quantitativ zu Kohlendioxyd zu oxydieren.

3. Die Bestimmung von Schwefeldioxyd in Luft.

4. Die Bestimmung des Gesamtschwefels in Brenngasen.

Im letzteren Fall wird das Gas zunächst zusammen mit Sauerstoff verbrannt. Durch eine einfache apparative Anordnung wird dafür gesorgt, daß das Kondenswasser der Verbrennung gemeinsam mit der Titerflüssigkeit in das Zehntropfenrohr eingeführt wird.

Die Genauigkeit dieser analytischen Methode ist außerordentlich hoch und beträgt beispielsweise bei der Bestimmung des Kohlendioxydgehaltes der Luft weniger als 1 Relativprozent. Schwefeldioxyd in Gasen kann bis zu einer Grenze von 0,0003 mg/l quantitativ erfaßt werden.

Die Anwendung des Gegenstromprinzips mit wenigen Tropfen Absorptionsflüssigkeit für die Mikrogasanalyse wird wohl noch sehr viele Anwendungsmöglichkeiten finden. Man kann die Methode auch in der verschiedensten Weise, besonders durch Kombination mit anderen bekannten physikalischen oder chemischen Methoden weiter ausgestalten. Eine solche Möglichkeit, nämlich die Anwendung der Leitfähigkeitsmethode, wurde näher untersucht, wobei die oben zugeführten und unten am Tropfrohr abgeführten Absorptionsflüssigkeiten ein Mikro-Leitfähigkeits-Gefäßchen passieren, das nur ein Volumen von wenigen Tropfen hat. Es bietet sich so die Möglichkeit, bei konstantem Gasstrom und bei konstanter zutropfender Absorptionsmittelmenge die Leitfähigkeitsdifferenz von zwei Tropfen zur laufenden analytischen Bestimmung der absorbierten Gase zu benutzen. Dieses Verfahren wird es bei Verwendung entsprechender Kompensationsschaltungen wohl auch ermöglichen, Apparate mit direkt anzeigenden oder sogar registrierenden Meßinstrumenten zu bauen. Einzelheiten über die Entwicklungsarbeiten und über die verschiedenen Anwendungen des Gegenstromprinzips in der Mikrogasanalyse werden in dieser Zeitschrift an anderer Stelle veröffentlicht.

Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, daß reaktionsfähige Beimischungen, die sich in sehr kleiner Konzentration in strömenden Gasen befinden, quantitativ absorbiert und analytisch erfaßt werden können, wenn man das Gas im Gegenstrom durch ein Zehntropfenrohr leitet, in dem über entsprechend geformte Glaskörper Absorptionsflüssigkeit kontinuierlich nach unten fließt, so daß sich immer nur wenige Tropfen in dem Gegenstromrohr befinden.

Literatur.

- ¹ K. Peters, Anz. Österr. Akad. Wiss., mathem.-naturwiss. Kl. Nr. 10 (1953).
- ² F. Feigl, Spot Tests. Bd. 2. Amsterdam: Elsevier. 1954. S. 40. F. Feigl und P. Krumholz, Mikrochem. Pregl-Festschrift 77 (1929).
- ³ A. Gey, Diplomarbeit, Techn. Hochschule Wien. 1953.
- ⁴ W. Löffler, Diplomarbeit, Techn. Hochschule Wien. 1954.

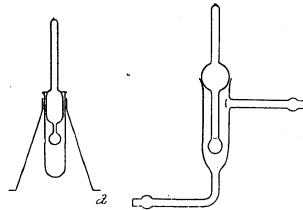


Abb. 1. Tropfenapparat nach Feigl und Kromholz.

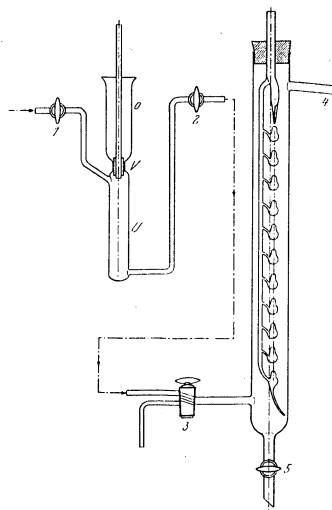


Abb. 2. Zeintropfenrohr.

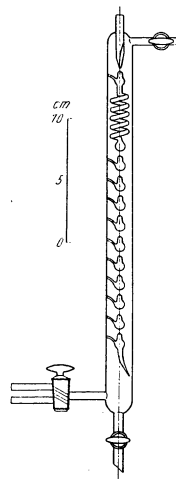


Abb. 3. Erstes Modell eines „Spiraltropfrohrs“.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/69.

Zeilenanzahl: 306.

Aus dem Forschungslaboratorium der Heilmittelwerke G.m.b.H., Wien.

Beitrag zur Frage der Gitterkräfte organischer Moleküle.

Schmelzpunktslage, molare Schmelzwärme, Schmelzentropie und Raumbau organischer Verbindungen.

Von

J. Pirsch.

Mit 4 Abbildungen.

(Eingelangt am 13. Mai 1955.)

Systematische Untersuchungen sowie Vergleiche vom Gesichtspunkt der klassischen Stereochemie aus führten bereits 1937 zum abschließenden Ergebnis¹, daß die Form der Raumerfüllung organischer Moleküle für die Größe der molaren Schmelzwärme von entscheidendem Einfluß ist. Die organischen Verbindungen lassen sich der Größe ihrer molaren Schmelzwärme nach entsprechend ihrer Schmelzpunktslage gut in drei große Raumtypen aufteilen, wie dies die nachstehende Abb. 1 erkennen läßt.

So zeigen, raumchemisch gut begründet, organische Verbindungen von kugeligem Raumbau besonders kleine Schmelzentropiewerte bzw. geringe molare Schmelzwärmen. Dabei sind die Natur und Anzahl der am Molekülaufbau beteiligten Skelettatome ganz belanglos, entscheidend ist jedoch die sphärische Atomgruppierung im Molekül für das Auftreten sehr kleiner Werte der molaren Schmelzwärme. Als praktische Nutzanwendung war und ist dadurch das zielsichere Aufsuchen von Lösungsmitteln mit überaus hohen Molardepressionen² gegeben.

Aber auch in anderer Hinsicht verdienen Verbindungen von sphärischem Raumbau besonderes Interesse. Bei den sehr kleinen Werten der molaren Schmelzwärme, die sphärisch gebaute Verbindungen in der Regel zeigen, ist die Annahme sehr naheliegend, daß im Schmelzpunktsbereich selbst keine polymorphen Umwandlungen vor sich gehen, mithin keine Umwandlungswärme additiv die eigentliche Schmelzwärme fälschlich erhöht. Weiters weisen die auffallend kleinen molaren Schmelzwärmen, aber noch treffender die überaus geringen Schmelzentropiewerte geradezu zwingend darauf hin, daß zumindest knapp oberhalb des Schmelzpunktes in der flüssigen Phase der kybotaktische Zustand erhalten bleibt oder mit anderen Worten, daß knapp oberhalb des Schmelzpunktes in der flüssigen Phase fast dieselbe Lageordnung der Molekeln wie im Kristallgitter knapp unterhalb des Gefrierpunktes bestehen bleibt.

Erst unter diesen gegebenen Voraussetzungen kann eine gesetzmäßige Beziehung zwischen der Schmelzpunktslage und der molaren Schmelzwärme — wenn überhaupt — erwartet werden. Diese gesetzmäßige Relation ist nun tatsächlich gegeben und will ich diese als „Koordinierungsregel der Beziehung Schmelzpunktslage — molare Schmelzwärme“ bezeichnen. Sie lautet, daß jede Körperklasse, durch ihre Raumform charakterisiert, bei den sphärisch gebauten Molekülen acyclisch, cyclisch je nach der Anzahl der Ringe unterteilt, eine lineare Abhängigkeit der molaren Schmelzwärme $\Delta_E H$ von der Schmelzpunktslage T_e aufweist, oder anders ausgedrückt, daß jede Molekülraumform durch eine bestimmte Schmelzwärme — Schmelzpunktsgerade charakterisiert ist. Es besteht die Beziehung:

$$\Delta_E H = k(T_e - a) \text{ oder } T_e = \frac{\Delta_E H}{k} + a,$$

wobei k und a charakteristische Konstanten für jede Raumformtype

darstellen. Lage und Neigung der Schmelzwärme-Schmelzpunkts-Geraden für die einzelnen Raumtypen verraten in vergleichender Übersicht ein harmonisches Prinzip, wofür vielleicht später eine wohlbegründete physikalische Deutung gefunden werden kann.

So sind sphärisch gebaute Verbindungen von Typus (2,1,2)-Heptan(I) mit Einschluß der Camphergruppe sowie von Typus (2,2,2)-Octan(II), — ausgenommen die Kohlenwasserstoffe — durch die Konstanten $k = 8,1$ und $a = 260$ gekennzeichnet, die Abkömmlinge des α -Dicyclopentadiens (III) durch die Werte $k = 7,7$ und $a = 282$.

Eine Erhöhung der Ringanzahl³ in sphärisch gebauten organischen Molekeln bewirkt also eine beachtliche Senkung der molaren Schmelzwärme bzw. Schmelzentropie bei gleicher Schmelzpunktslage.

Höchst bemerkenswert sind die weiteren Untersuchungsergebnisse⁴, daß Brückenringverbindungen hydrierter Phthalsäureanhydride (IV bis VII), die, raumchemisch betrachtet, der Körperklasse der α -Dicyclopentadien-Derivaten gleichzustellen sind, ebenfalls wie diese hinsichtlich ihrer Schmelzpunkts-Schmelzwärme-Beziehung in die gleiche Gerade fallen. Es bewirkt also eine Änderung der elektrischen Ladung und ihrer Verteilung in Molekül, die zweifellos beim Austausch von Ringgruppen, wie im vorliegenden Fall: Propylen-Brücke gegen Dicarbonsäureanhydrid-Brücke, unter Wahrung der gesetzmäßigen Beziehung *nur* eine Verschiebung der Werte der molaren Schmelzwärme und der Schmelzpunktslage auf der für eine bestimmte Raumtype (sphärisch mit der gleichen Ringanzahl) charakteristischen Schmelzpunkts-Schmelzwärme-Geraden. Ein betont ausgeprägter Dipolcharakter, wie etwa bei Dicarbonsäureanhydriden mit dem Dipolmoment $\mu \cdot 10^{-18}$ um 4,5 herum, stört also die gesetzmäßige Beziehung der molaren Schmelzwärme zur Schmelzpunktslage nicht.

Eine sehr schöne Bestätigung für die bis nun ermittelten raumchemischen Einflüsse auf die Größe der molaren Schmelzwärme konnte in jüngster Zeit bei den beiden Dilactonverbindungen der 4,5-Dioxy-3,6-endomethylen- bzw. 4,5-Dioxy-3,6-endoäthylen-hexahydrophthalsäure (VIII und IX)⁵ erbracht werden. Diese Verbindungen enthalten 5 Ringe unter Wahrung des sphärischen Raumbaus; der erhöhten Ringanzahl nach liegt die molare Schmelzwärme-Schmelzpunkts-Gerade ($k = 7,16$, $a = 334$) in Anbetracht der starken Rechtsverschiebung noch tiefer als die Gerade für den sphärisch gebauten Raumtypus mit 4 Ringen. Bei diesen Dilactonen sind nur durch die Massierung von zwei stark polaren Gruppen im Molekül die Schmelzpunktslagen sowie die Werte der molaren Schmelzwärme wesentlich erhöht, wobei aber die Entropiewerte trotzdem sehr klein bleiben.

Aus der Gruppe der Scheibenmoleküle geben die Dihalogenbenzole⁶ die Schmelzwärme-Schmelzpunkts-Beziehung besonders gut wieder. Bei den p-Dihalogenbenzolen beträgt bei $k = 14,8$ und $a = 38$ die Streuung der Werte im Grenzfall 2,8%, bei m- und o-Dihalogenbenzolen mit den Konstanten $k = 14,3$ und $a = 48$ zeigt die Streuung ein Maximum von 6,8%. Nach A. Eucken⁶ erfolgt bei Aromaten der totale Schmelzprozeß in einer Stufe, zumindest sind bei reinen Aromaten Umwandlungspunkte unterhalb des Schmelzpunktes nicht zu beobachten.

Bezeichnend ist, soweit planvolle Untersuchungen bisher vorliegen,

daß die molare Schmelzentropie $S_e = \frac{\Delta_e H}{T_e} = k \left(1 - \frac{a}{T_e}\right)$ bei organischen

Verbindungen als vielatomigen Gebilden mit dem Schmelzpunkt ansteigt und bei sphärisch gebauten Molekülen dem Schmelzentropiewert der Edelgase zustrebt. Im Vergleich dazu zeigen die Edelgase sowie die Alkalimetalle⁷ konstante Entropiewerte (3,4 bzw. 1,7); letztere weisen also keinen Temperaturgang auf.

Ebenso bemerkenswert ist die auf das Molekulargewicht 100 „reduzierte Molardepression“ $\frac{100E_g}{M}$ (M = Molgewicht des Lösungsmittels),

die bei kugelig gebauten Molekeln bei ansteigender Schmelzpunktslage in fallender Tendenz je nach der Ringanzahl einen konstanten Wert

Tabelle 1.

	<i>M</i>	<i>T_e</i> (°K)	<i>E_g</i> gef.	ΔE^H aus <i>E_g</i> er- mittelt	ber. nach <i>k(T_e-a)</i>	<i>S_e</i>	$\frac{100 E_g}{M}$
<i>Sphärisch mit 3 Ringen:</i>							
Campherchinon	166,2	472	45,7	1,61	1,71	3,41	27,5
Campher	152,2	451	40,0	1,54	1,54	3,42	26,3
2,5-endo-Äthyleneyclo- hexanon	124,2	451	32,9	1,54	1,54	3,42	26,3
2,6-Dichlorcamphan	207,1	447	56,2	1,47	1,51	3,29	27,1
2,6-Dibromcamphan	296,1	443	80,9	1,44	1,47	3,25	27,3
Bornylamin	153,3	437	40,6	1,44	1,43	3,29	26,5
1,4-endo-Azocyclohexan	110,2	414	32,2	1,17	1,24	2,82	29,2
Isobornylbromid	217,1	409	58,7	1,23	1,20	3,01	27,0
Bornylchlorid	172,7	404	46,5	1,20	1,16	2,97	26,9
endo-Methylendehydro- piperidazin	96,1	373	29,4	0,90	0,91	2,42	30,5
Norcampher	110,1	366	36,6	0,82	0,85	2,24	33,2
Bornylbromid	217,1	363	67,4	0,83	0,83	2,31	31,0
Camphenilon	138,2	312	64,0	0,42	0,42	1,35	46,3
<i>Sphärisch mit 4 Ringen:</i>							
α -Dicyclopentadiendioxyd	164,2	462	53,4	1,31	1,39	2,82	32,5
cis-Endoäthylenhexahy- drophthalsäureanhydrid	180,2	460	51,2	1,47	1,37	3,21	28,5
α -cis-3,6-Endomethylen- hexahydrophthalsäure- anhydrid	166,2	441	53,7	1,19	1,23	2,71	32,4
α -cis-3,6-Endomethylen- Δ^4 - tetrahydrophthalsäure- anhydrid	164,2	438	53,5	1,17	1,20	2,67	32,6
α -cis-3,6-Endoäthylen- Δ^4 - tetrahydrophthalsäure- anhydrid	178,2	420	58,6	1,07	1,07	2,54	32,9
Tetrahydro- α -dicyclopenta- dien-on-(3)	150,2	374	52,5	0,79	0,71	2,11	34,9
Dihydro- α -dicyclopentadien- monoxyd	150,2	273	56,9	0,72	0,70	1,96	37,9
α -Dicyclopentadienmonoxyd	148,2	354	66,9	0,55	0,55	1,56	45,1
Dihydro- α -dicyclopentadien- on-(3)	148,2	326	92,0	0,34	0,34	1,04	62,1
<i>Sphärisch mit 5 Ringen:</i>							
Dilacton der 4,5-Dioxy-3,6- endoäthylen-hexahydro- phthalsäure	194,2	578	71,9	1,79	1,82	3,10	37,0
Dilacton der 4,5-Dioxy-3,6- endomethylen-hexa- hydrophthalsäure	180,2	539	66,8	1,56	1,54	2,89	37,1

(Fortsetzung)

Tabelle 1.

	<i>M</i>	<i>T_e</i> (°K)	<i>E_g</i> aus <i>E_g^H</i> er- mittelt	ΔE^H		<i>S_e</i>	$\frac{100 E_g}{M}$
				gef.	ber. nach <i>k(T_e-a)</i>		
<i>p-Dihalogenbenzole:</i>							
p-Dijodbenzol	329,9	402	19,8	5,34	5,40	13,28	6,0
p-Bromjodbenzol	282,9	363	15,8	4,70	4,82	12,95	5,6
p-Dibrombenzol	235,9	358	12,4	4,86	4,75	13,58	5,2
p-Chlorbrombenzol	191,5	338	9,7	4,49	4,45	13,28	5,1
p-Dichlorbenzol	147,0	326	7,1	4,39	4,27	13,46	4,8
<i>m- und o-Dihalogenbenzole:</i>							
m-Dijodbenzol	329,9	307	16,3	3,80	3,70	12,38	4,9
o-Dijodbenzol	329,9	298	17,2	3,36	3,57	11,27	5,2
o-Bromjodbenzol	182,9	275	12,3	3,46	3,24	12,58	4,3
o-Dibrombenzol	235,9	275	11,7	3,02	3,24	10,98	4,9
m-Dibrombenzol	235,9	266	10,5	3,16	3,12	11,88	4,5
m-Bromjodbenzol	282,9	264	13,6	2,88	3,08	10,91	4,8
o-Chlorbrombenzol	191,5	260	8,7	2,95	3,03	11,32	4,6
o-Dichlorbenzol	147,0	256	6,2	3,09	2,97	12,07	4,2
m-Chlorbrombenzol	191,5	252	8,2	2,93	2,92	11,65	4,3
m-Dichlorbenzol	147,0	249	6,0	3,02	2,87	12,13	4,1

in einem breiten Geltungsbereich annimmt, während bei anderen Raumtypen, wie etwa bei Scheibenmolekeln (Aromaten) die „reduzierte Molardepression“ mit der Schmelzpunktslage stetig ansteigt.

Abb. 3 und Abb. 4.

Die so festgelegte Gesetzmäßigkeit der Schmelzwärme-Schmelzpunktslage-Beziehung, bedingt durch die Ausschaltung störender Faktoren, erleichtert ganz wesentlich, Abweichungen, größere Anomalien, die oft die Regel bilden, aufzuklären. Im besonderen ist man erst jetzt in der Lage, den etwaigen Anteil der polymorphen Umwandlungswärme im Schmelzpunktsbereich wertmäßig festzustellen.

Bei den kugelig gebauten Molekeln* mit mehreren Ringen sind jedoch

* Den Molekülmodellen nach G. Briegleb entsprechend ist bei den monocyclischen Verbindungen Cyclopentan und Cyclohexan die Molekülform auch in der dritten Raumrichtung beachtlich stark entwickelt. Damit in Einklang stehend sind die Schmelzentropien dieser Kohlenwasserstoffe überaus gering (0,804 bzw. 2,245). Doch machen sich in besonderem Ausmaß ganz allgemein bei organischen Verbindungen mit weniger als ca. 8 Skelettatomen bereits geringe konstitutive Veränderungen, die die Symmetrie stören, schon so stark geltend, daß bei den dadurch bedingten tiefen Schmelzpunktslagen die Neigung zur Übermolekülbildung sowie andere Ursachen für das Auftreten von polymorphen Umwandlungen im Schmelzpunktsbereich vorherrschend sind. Durch den Zutritt der Umwandlungswärme treten so in der Mehrzahl der Fälle wesentlich erhöhte Werte der molaren Schmelzwärme auf.

krasse Anomalien infolge regelwidrig hoher molarer Schmelzwärmen verhältnismäßig selten anzutreffen. Wie etwa bei sphärisch gebauten Molekeln mit 4 Ringen konnten bisher erst vier Verbindungen ermittelt werden, deren molare Schmelzwärmen 3- bis 11,5 mal höher sind, als dies unter Bedachtnahme einer kritischen Bewertung des Molekülbegriffes auch für den kristallinen Zustand zu erwarten war. Es liegen hier polymorphe Umwandlungen im Schmelzpunkt selbst von beträchtlicher Wärmetönung vor.

Tabelle 2.

	M	$T_g(^{\circ}K)$	E_g gef.	$\Delta_E H$			S_e
				aus E_g er- mittelt	ber. nach $k(T_g^2 - a)$	Diffe- renz	
<i>Sphärisch mit 4 Ringen:</i>							
Dibrom- β -cis-endomethylenhexahydrophthalsäureanhydrid	324	521	33,0	5,30	1,85	3,45	10,16
Dibrom- α -cis-endomethylenhexahydrophthalsäureanhydrid	324	480	17,0	8,52	1,52	7,00	17,76
β -cis-3,6-Endomethylen- Δ^4 -tetrahydrophthalsäureanhydrid	164	415	7,8	7,20	1,02	6,17	17,35
Dihydro- α -dicyclopentadiendibromid	294	338	13,8	4,83	0,43	4,40	14,24
<i>Sphärisch mit 3 Ringen:</i>							
α -d-Bromcampher	231	349	11,9	4,71	0,72	3,99	13,50
d-Fenchon	152	279	6,8	3,46	0,16	3,30	12,41

Ebenso sind in der Camphergruppe nur zwei Verbindungen mit regelwidrig hohen Schmelzwärmen bisher namhaft zu machen, nämlich der α -d-Bromcampher⁹ sowie das d-Fenchon⁹, deren Schmelzwärmen schon seit langem bekannt sind. Diese Befunde dürften wohl einst sehr maßgebend dafür gewesen sein, daß in der Campherreihe eine systematische Durchprüfung der Schmelzwärmen so lange unterblieb.

Auffallenderweise zeigen ausnahmslos alle bisher untersuchten Kohlenwasserstoffe aus der Camphergruppe sowie alle Kohlenwasserstoffe der α -Dicyclopentadienreihe höhere Werte der molaren Schmelzwärme, als dies nach der gesetzmäßigen Beziehung zu erwarten war; die Schmelzwärmen dieser Kohlenwasserstoffe fallen also nicht in die ihren Raumtypen entsprechenden molaren Schmelzwärme-Schmelzpunkts-Geraden.

Tabelle 3.

	M	$T_e(^{\circ}K)$	R_g gef.	R^H			S_e
				aus E_g er- mittelt	ber. nach $k(T_e - a)$	Diffe- renz	
<i>Sphärisch mit 4 Ringen:</i>							
Tetrahydro- α -dicyclopentadien	136,2	350	35,0	0,95	0,52	0,43	2,71
Dihydro- α -dicyclopentadien	134,2	323	45,4	0,61	0,32	0,29	1,90
α -Dicyclopentadien	132,2	305	46,2	0,53	0,18	0,35	1,73
<i>Sphärisch mit 3 Ringen:</i>							
Camphan	138,2	429	29,5	1,71	1,36	0,35	3,99
l-Bornylen	136,2	386	33,5	1,20	1,02	0,18	3,12
Isocamphan	138,2	338	44,5	0,70	0,63	0,07	2,08
Camphen	136,2	322	31,8	0,88	0,50	0,38	2,74

Diese Untersuchungsbefunde wirken auf den ersten Blick um so befremdender, als gerade bei Kohlenwasserstoffen durch das Fehlen stark polarer Gruppen die mehr symmetrische Ladungsverteilung nur eine schwache Feldwirkung erzeugt, mithin im Vergleich zu Verbindungen vom selben Raumtypus, jedoch mit stärker ausgeprägtem Dipolcharakter eher noch kleinere molare Schmelzwärmen resultieren müßten. Dieser scheinbare Widerspruch findet jedoch seine Erklärung, wenn man annimmt, daß bei den genannten Kohlenwasserstoffen die geringfügigen raumgerichteten Kohäsionskräfte bei den für Kohlenwasserstoffe charakteristischen kleinen Dipolmomenten zwischen 0 und 0,5 beim Schmelzvorgang unter Wärmeverbrauch aufgehoben nicht mehr raumrichtend wirksam sind, während bei allen übrigen Verbindungen entsprechend der Natur der polaren Gruppen mit den Dipolmomenten über ca. 1,5 hinaus die im Raum ausgerichteten Kraftfelder zumindest knapp oberhalb des Schmelzpunktes weiterhin noch so wirksam bleiben, daß sie die Moleküle in bestimmten Schwärmen ausgerichtet halten. Es dürften dann bei Kohlenwasserstoffen über dem Schmelzpunkt ungehinderte Rotationsmöglichkeiten nach allen drei Raumrichtungen bestehen, während bei Verbindungen mit stärkeren Dipolmomenten nur eine raumgerichtete Rotation möglich scheint.

Zusammenfassung.

Erst unter Berücksichtigung der Raumform organischer Moleküle, bei kritischer Bewertung der Zulässigkeit des Molekülbegriffes auch für den kristallinen Zustand unter Beiziehung bestimmter Kriterien gelingt es, gesetzmäßige Beziehungen zwischen der Schmelzpunktslage und der molaren Schmelzwärme organischer Verbindungen zu erhalten. Diese gesetzmäßige Relation, die als „Koordinierungsregel der molaren Schmelzwärme zur Schmelzpunktslage“ bezeichnet werden kann, lautet: daß jede Körperklasse durch ihre Raumform charakterisiert, bei den sphärisch gebauten Molekülen acyclisch, cyclisch je nach der Anzahl der Ringe unterteilt, eine lineare Abhängigkeit der molaren Schmelzwärme von der Schmelzpunktslage aufweist. Es besteht die Beziehung:

$$\Delta_R H = k (T_e - a) \text{ oder } T_e = \frac{\Delta_R H}{k} + a,$$

wobei k und a charakteristische Konstanten für jede Raumformtype darstellen. Lage und Neigung der Schmelzwärme-Schmelzpunktsgeraden für die einzelnen Raumtypen verraten in vergleichender Überschau ein harmonisches Prinzip.

Bezeichnend ist, daß die molare Schmelzentropie S_e bei organischen Verbindungen als vielatomigen Gebilden mit der Schmelzpunktslage ansteigt und diese bei sphärisch gebauten Molekülen dem Schmelz-antropiewert der Edalgase zustrebt. Ebenso bemerkenswert ist die auf das

(Molekulargewicht 100 „reduzierte Molardepression“ $\frac{100 E_g}{M}$ (M = Molekulargewicht des Lösungsmittels), die bei kugelig gebauten Molekülen bei ansteigender Schmelzpunktslage in fallender Tendenz je nach der Ring-

anzahl einen konstanten Wert in einem breiten Geltungsbereich annimmt, während bei andern Raumtypen, wie etwa bei Scheibenmolekülen (Aromaten) die „reduzierte Molardepression“ mit der Schmelzpunktlage ansteigt.

Die so festgelegte Gesetzmäßigkeit der Schmelzwärme-Schmelzpunktlage-Beziehung erleichtert ganz wesentlich, Abweichungen, krasse Anomalien, die oft die Regel bilden, aufzuklären. Im besonderen ist man erst jetzt in der Lage, den etwaigen Anteil der polymorphen Umwandlungswärme im Schmelzpunktsbereich wertmäßig festzustellen.

Literatur.

- ¹ J. Pirsch, Ber. dtsch. chem. Ges. **70**, 12 (1937).
- ² J. Pirsch, Angew. Chem. **51**, 73 (1938).
- ³ Bemerkung zur Zählung der Ringanzahl der sphärisch gebauten organischen Verbindungen, J. Pirsch, Mh. Chem. **86**, 226 (1955).
- ⁴ J. Pirsch, Mh. Chem. **86**, 216 (1955).
- ⁵ J. Narbutt, Z. Elektrochem. **25**, 51 (1919).
- ⁶ A. Eucken, Angew. Chem. **55**, 163 (1942).
- ⁷ J. W. Richards, Chem. News **75**, 278 (1897); zit. nach Chem. Zbl. **1897** II, 170. H. Crompton, Chem. News **88**, 237 (1903); zit. nach Chem. Zbl. **1903** II, 1410.
- ⁸ M. Padua und G. Rotondi, Atti accad. Lincei (Rend.) (5) **21** II, 629 (1912); zit. nach Chem. Zbl. **1912** II, 269.
- ⁹ T. Jona, Gazz. chim. ital. **47** II, 88 (1917); zit. nach Chem. Zbl. **1918** II, 121.

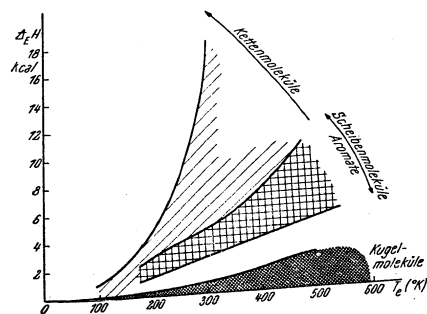
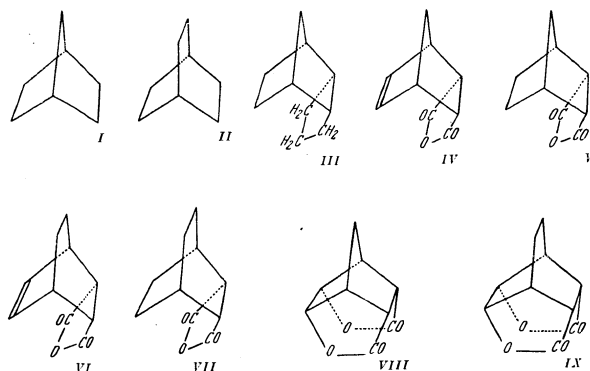
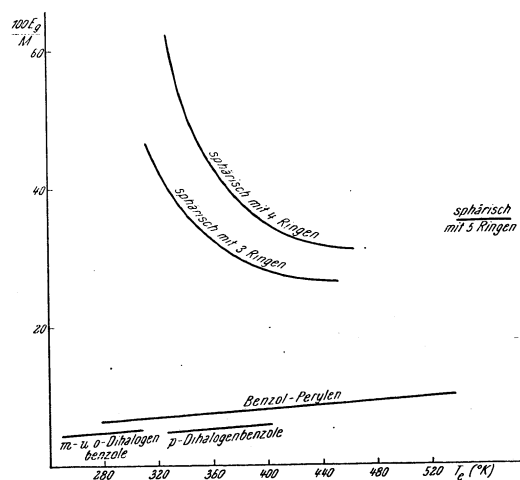
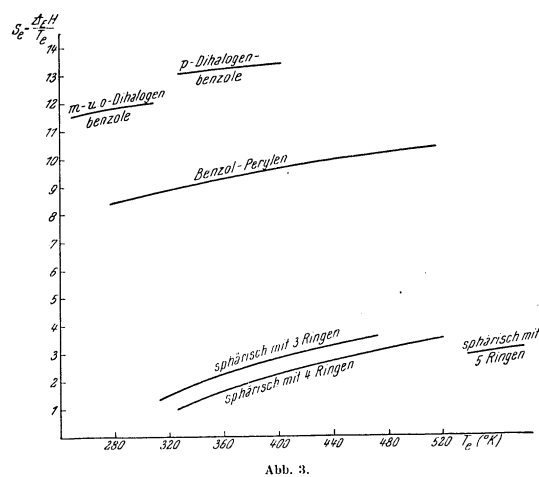
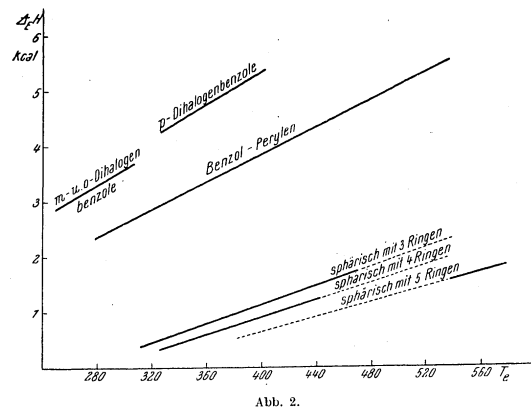


Abb. 1.

400 a



400 b

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/70.

Zeilenanzahl: 456.

Analytisches Laboratorium der Badischen Anilin- und Sodafabrik AG.,
Ludwigshafen am Rhein.

Ionenaustausch in der Mikroanalyse und bei präparativen Mikroarbeiten.

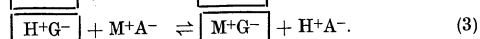
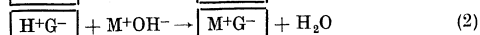
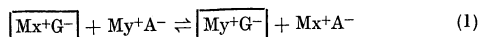
Von
E. Abrahamezik.

(Eingelangt am 13. Mai 1955.)

Für analytische Zwecke wurde das Prinzip des Ionenaustausches erstmals durch *Folin* und *Bell* während des ersten Weltkrieges angewandt. Ammoniak wurde aus Harn mit einem künstlichen Zeolith, „Natriumpermutit“, abgetrennt.

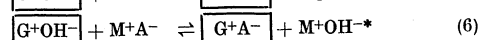
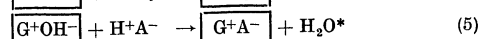
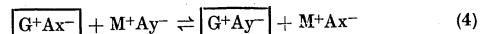
Die heute in der Analyse verwendeten Ionenaustauscher sind fast ausnahmslos Austauschharze. Bevorzugt werden die Marken Amberlite, Dowex und Wofatite. Sie werden als gekörnte Produkte oder in Form kleiner Kügelchen geliefert. Ähnlich wie bei der technischen Anwendung werden sie zumeist als Rohrfüllungen (Säulen) benützt, durch die die zu behandelnden Lösungen filtriert werden, wobei die Zwischenräume zwischen den Körnern stets mit Flüssigkeit erfüllt bleiben.

Die genannten Austauscher sind Kondensations- oder Polymerisationsprodukte, die als aktive Gruppen $-\text{COOH}$ - oder $-\text{SO}_3\text{H}$ -Gruppen (= Kationenaustauscher), aromatische Amino- (Imino-) oder quaternäre Ammoniumgruppen (= Anionenaustauscher) enthalten. Gemäß der Dissoziationsfähigkeit dieser Gruppen sind die Austauscher in ihrer Acidität bzw. Basizität sehr verschieden. Austauscher mit Carboxylgruppen vermögen Kationen (Metallionen bzw. organische Basen) auszutauschen, freie Basen aufzunehmen, ferner Salze schwacher Säuren unter Freisetzung der letzteren zu zerlegen. Austauscher mit Sulfosäuregruppen können überdies starke Säuren aus ihren Salzen freimachen:



(G^- bedeutet hierin die hochpolymere, wasserunlösliche, ladungsführende Gerüstsubstanz des Austauschers; M^+ , Mx^+ , My^+ beliebige Kationen, A^- ein beliebiges Anion.)

Anionenaustauscher mit aromatischen Amino- (oder Imino-)Gruppen können Anion gegen Anion austauschen, ferner freie Säuren aufnehmen und aus Salzen sehr schwacher Basen diese in Freiheit setzen. Die stark basischen Austauscher mit quartärem Ammonium-N sind außerdem imstande, aus Salzen starker Basen diese freizumachen:



* Die Formulierung des Austauschers als dissoziierte Base trifft streng genommen nur für die stark basischen Austauscher zu.

Alle bei der analytischen Verwendung der Austauscher stattfindenden Reaktionen gehorchen einer dieser sechs Gleichungen. Hiervon sind (1), (3), (4) und (6) Gleichungen umkehrbarer Reaktionen, die zu Gleichgewichten führen. Bei der Beladung des Austauschers verläuft die Reaktion in verdünnter Lösung von links nach rechts; bei der Regeneration in konzentrierter Lösung von rechts nach links. Damit die Reaktionen

für analytische Zwecke möglichst quantitativ ablaufen, arbeitet man daher bei der Beladung im allgemeinen in verdünnten Lösungen (höchstens 0,1-n). Die untere Konzentrationsgrenze ist — je nach Art der ablaufenden Reaktionen und Art und Menge von Begleitelektrolyten — meist bei 10^{-4} bis 10^{-6} Grammäquivalenten je Liter gelegen. Selbst aus 10^{-10} -n Lösungen erfolgt unter günstigen Umständen noch eine 50%ige Aufnahme (Spurenelementanreicherung).

Weitgehend wird die anzuwendende Konzentration der Lösung — natürlich auch die Absolutmenge an dem vom Austauscher aufzunehmenden Stoff — von der Kapazität des Austauschers beeinflusst. Diese liegt zwischen 0,5 und 4, durchschnittlich bei 1 Milliäquivalent je Kubikzentimeter Austauscher.

Bei der Elution (Regenerierung) wird eine wesentlich höhere Konzentration, 1-n, häufig 4-n, mitunter bis zu 10-n angewandt.

Die Anwendung des Ionenaustausches in der Mikroanalyse erfolgt in selteneren Fällen bei der Arbeit mit kleinen Substanzmengen (im Milligramm-Maßstab) weitaus häufiger bei der Isolierung von Spuren aus großen Mengen Ausgangsmaterial.

„Eintrag“-Verfahren und Säulenverfahren.

Die angewandten Verfahren und Apparaturen sind im Prinzip die gleichen wie bei der Makroarbeit. Man arbeitet entweder mit portionsweisem Eintragen des Austauschers unter Rühren in die zu behandelnde Lösung (im englischsprachigen Schrifttum als „batch“ bezeichnet) oder nach dem Säulen- („column“-)Verfahren mit Durchfiltrieren der zu behandelnden Lösung durch eine in einem Rohr befindliche Schicht des Austauschers.

Das erstgenannte Verfahren wird angewandt, wenn die am Austauscher stattfindende Reaktion nach den oben angeführten Gleichungen (2) oder (5) verläuft. Für Reaktionen nach den anderen Gleichungen verwendet man die Säulenmethode. Beim Durchleiten durch die Säule kommt die Lösung in den unteren Schichten mit noch unbeladenem Austauscher in Berührung, das Gleichgewicht der umkehrbaren Reaktion liegt daher noch mehr in der gewünschten Richtung.

Auch für die mikrochemische Arbeit ist das Eintrageverfahren einfacher als das Säulenverfahren. Es hat außer in den genannten Fällen noch seine berechnete Anwendung gefunden bei der Entsalzung von Lösungen mit Gemischen von Kationen- und Anionenaustauschern und in den Fällen, in denen beim Austauschvorgang Gase (CO_2 , H_2S , SO_2) entwickelt werden oder Fällungen auftreten bzw. feste Bestandteile in Lösung gehen sollen.

Die Vorteile beider Verfahren verbindet man gelegentlich, indem man erst die Reaktion durch Eintragen des Austauschers in die zu behandelnde Lösung zum größten Teil abklingen läßt und sie dann durch Filtration durch eine kurze Säule zu Ende führt.

Zu dem Eintrage- und dem Säulenverfahren haben wir noch ein drittes Verfahren entwickelt: Die „Austauschdialyse“ für die Reaktion zwischen Suspensionen und Austauschern. Besonders in der Bodenkunde hat man versucht, Aufschlammungen (von feingemahlten Erdproben) mit Ionenaustauschern umzusetzen¹, dann durch ein grobes Sieb den Austauscher von der Suspension zu trennen, um sodann Austauscher und Suspension getrennt der analytischen Untersuchung zuzuführen. Bei der Austauschdialyse werden zwei durch eine großflächige Membran getrennte schmale Räume mit der Suspension bzw. dem in Wasser aufgeschlämmten Austauschermaterial gefüllt. Ohne allzu große zeitliche Verzögerung vollzieht sich die Reaktion zwischen Suspension und Austauscher, nach deren Ablauf die nicht miteinander verunreinigten Inhalte der beiden Kammern analysiert werden können. Beispielsweise enthält der angewandte H^+ -Austauscher die austauschbaren Bestandteile des Bodens, die Bodensuspension kann zur Aufnahme der Neutralisationskurve dienen.

Austauschersäulen.

Die in der Mikroanalyse angewandten Austauschersäulen richten sich in ihrer Größe nach der von der Füllung aufzunehmenden Menge an

Ionen. Soll bei der Trennung eines in geringer Menge vorhandenen Ions von einer störenden Hauptmenge letztere vom Austauscher aufgenommen werden, so verwendet man die in der Makroanalyse üblichen Säulen. Wird aber der in Mikromengen vorhandene Bestandteil vom Austauscher gebunden, so genügen Säulen kleineren Ausmaßes. Eine durchschnittliche Kapazität von 1 Milliäquivalent pro ml Austauscher vorausgesetzt, von der etwa die Hälfte analytisch genützt werde, kann also eine Säule von 1 ml Inhalt etwa 11 mg Na^+ , 10 mg Ca^{++} , 17 mg Cl^- , 24 mg SO_4^{--} , aber nur 0,5 mg H^+ oder 8 mg OH^- aufnehmen.

Konstruieren wir eine solche Säule für 1 ml Inhalt nach dem als empfehlenswert erkannten Verhältnis von Durchmesser zu Höhe gleich 1 : 10, so hat die Säule 5 mm Durchmesser und 50 mm Höhe. Die für Mikrosäulen benützten Durchmesser liegen zumeist zwischen 2,5 und 7 mm, wobei 6 mm optimal ist². Je enger der Durchmesser des Rohres ist, desto weiter muß man nämlich mit der Korngröße des Austauschers heruntergehen; von der Korngröße hängt aber andererseits der Widerstand der Füllung, also die Strömungsgeschwindigkeit ab.

Zulauf und Ablaufrohr konstruiert man am besten nach dem Vorschlag von Klement³: Am unteren Ende der Säule befindet sich ein Dreiweghahn, an den sich außer dem üblichen, bis über das obere Ende der Rohrfüllung reichenden, Z-förmig gebogenen Ablaufrohr ein Zulaufrohr anschließt, das die einfache Umkehrung der Strömungsrichtung in der Säule ermöglicht. Am oberen Ende der Säule befindet sich noch ein seitliches, durch einen Hahn verschließbares Ablaufrohr. Der innere Durchmesser der kapillaren Rohre soll etwa 1 mm betragen. Tote Räume unter- und oberhalb der Austauscherfüllung vermeidet man, um eine Vermischung von Probelösung und Spülwasser zu verhindern. Es empfiehlt sich hierzu die Einbringung eines Verdrängungskörpers in den leeren Raum oberhalb des Austauschers.

Für manche Zwecke kombiniert man zwei Säulen durch Hintereinanderschalten, etwa bei der schrittweisen Entsalzung über H-Ionen- und OH-Ionenaustauscher. Es ist daher empfehlenswert, wenn Zu- und Ablaufrohre an den Enden Schiffe tragen.

Für die Austauschchromatographie sind die Säulen einfacher konstruiert, das Verhältnis von Durchmesser zu Höhe ist aber etwa 1 : 100. Dem starken Widerstand der Füllung begegnet man nötigenfalls durch Anwendung von Druck oder durch Arbeiten bei höherer Temperatur.

Die Austauscher.

Für die anzuwendende Austauschermarke lassen sich schwer allgemeine Richtlinien aufstellen. Entscheidend für die Wahl ist die Art der austauschenden Gruppe. Daneben sind zu berücksichtigen die Kapazität des Austauschers, die Regenerierbarkeit, die Beständigkeit gegen angreifende Stoffe, z. B. Säure, Alkali, oxydierende Stoffe, Lösungsmittel. Daher werden heute silikatische Austauscher analytisch nicht mehr angewandt, selten Austauscher auf Kohlebasis und vor den Formaldehyd-Kondensationsprodukten bevorzugt man Styrolpolymerisate. Bei den zuletzt genannten gibt es Sorten mit verschiedenem Vernetzungsgrad. Höhere Vernetzungsgrade, erreicht durch Copolymerisation mit steigenden Mengen Divinylbenzol, bedingen geringere Porengröße, geringeren Wassergehalt, geringere Quellbarkeit, daher auch langsamere Gleichgewichtseinstellung und Sinken der Kapazität für größere Ionen.

Aus der großen Auswahl von Ionenaustauschern seien als Beispiele angeführt:

Kationenaustauscher:	Amberlite	Dowex	Wofatit	Lewatit	Permutit
schwach sauer	IRC 50**		C	CN	H
stark sauer	IR 1		K		
	IR 100		KS	KSN	
	IR 112		P	PN	Q*
	IR 120*, ** 50*, ***		S 100*		RS*

Anionenaustauscher:

schwach basisch	IR 4 B**		M	M	E
	IR 45*	3*	MI	MI	

stark basisch	IRA 400*, ** 1*, ***	MII	E 3*
	IRA 410*, ** 2*, ***		ES*

* Styrolpolymerisat.

** Auch analysenrein erhältlich („Analytical Grade“).

*** In verschiedenen Korngrößen und Vernetzungsgraden erhältlich.

Die Teilchengröße der Austauscher soll für die Mikroanalyse unter 0,3 mm liegen, z. B. zwischen 0,15 und 0,3 mm (amerikanische Korngrößenbezeichnung > 50 mesh, z. B. 50 bis 100 mesh). Für die Ionenaustauschchromatographie muß sie sogar unter 0,1 mm betragen. Geeignet sind hierfür die Größen zwischen 0,04 und 0,08 mm (200 bis 400 mesh)⁴. Feinere Anteile beseitigt man durch Sieben oder Schlämmen.

Die Teilchenform (unregelmäßige Körner oder Kugelform) scheint dabei ohne besondere Bedeutung zu sein, sie beeinflusst aber die zwischen den Austauscherkörnern befindliche freie Wassermenge. Als Faustregel kann man aber trotzdem die absaugbare Wassermenge als die Hälfte des Säulenvolumens annehmen.

Vorbereitung der Säulenfüllung.

Die meisten Austauscher — mit Ausnahme der analysenreinen — sind als technische Produkte nicht rein genug, um ohne Vorbereitung bei mikrochemischen Arbeiten verwendet werden zu können. Sowohl Kationen- wie Anionenaustauscher reinigt man zunächst von Fe, Ca usw. durch längeres Digerieren mit etwa 4-n Salzsäure unter mehrmaligem Säurewechsel. Viele Austauscher vertragen diese Behandlung bei 40° bis 60° oder noch höheren Temperaturen. Sodann wird gründlich mit destilliertem Wasser gewaschen. Die Kationenaustauscher liegen dann in der H-Ionenform vor. Bei Bedarf bringt man sie durch Behandlung mit Salzlösungen (z. B. NaCl, Na-Acetat, NaHCO_3 , NH_4 -Salzen) in die gewünschte Metallionenform. Anionenaustauscher liegen nach der HCl-Behandlung in der Chloridionenform vor, die als solche vielfach angewandt wird. Schwach basische Austauscher werden durch eine Behandlung mit Natriumcarbonatlösung oder Ammoniak, stark basische durch Ammoniak oder Natronlauge in die freie Basenform übergeführt und anschließend gründlich mit destilliertem Wasser gespült.

Den Austauscher spült man mit Wasser in das Säulenrohr. Die Füllung soll bis zum Überlaufrohr reichen. Man muß allerdings hierbei berücksichtigen, daß manche Austauscher sehr stark im Laufe des Beladungs- bzw. Regenerationsvorganges quellen, z. B. Amberlite IRC 50 quillt bis 100%.

Elektrodialyse zur Reinigung der Ionenaustauscher.

Das Entfernen des Überschusses des Regenerierungsmittels gelingt vor allem bei den Anionenaustauschern oft nicht leicht. Besonders bei mikroanalytischen Arbeiten machen sich die Verunreinigungen störend bemerkbar. Wir haben in diesem Falle mit bestem Erfolg die Elektrodialyse zur Reinigung herangezogen⁵. Wir verwenden eine 3-Zellen-Anordnung. Die Zellen sind durch Membranen oder dichte Frittenplatten voneinander getrennt. Die äußeren Zellen enthalten je eine Elektrode und Zu- und Ablauf für Spülwasser. In die mittlere Zelle kommt der Austauscher, in Wasser eingeschlämmt. Man legt Spannung an die Elektroden, die Kationen werden aus dem Austauscher an die eine, die Anionen an die andere Elektrode bewegt und im Austauscher durch H- bzw. OH-Ionen ersetzt. Aus den Elektrodenräumen werden sie durch Spülung entfernt. In dem Maße, als die Leitfähigkeit der Austauschersuspension sinkt, steigert man die angelegte Spannung bis auf z. B. 220 Volt. Nach einigen Stunden ist der Austauscher frei von verunreinigenden Ionen.

Säulenbeladung.

Die Durchführung des Austauschvorganges, die Beladung der Säule, erfolgt nach den gleichen Grundsätzen wie bei der Makroanalyse. Die Durchsatzgeschwindigkeit ist in den meisten Fällen bei einem Säulendurchmesser von 6 mm etwa 3 bis 5 ml/min. In Sonderfällen wird sie aber auf 0,1 ml/min und weniger herabgesetzt.

Bei der Anwendung des Ionenaustausches in der Mikroanalyse wird

am unangenehmsten empfunden, daß das Arbeiten mit Ionenaustauschern zumeist eine beträchtliche Verdünnung der Lösung mit sich bringt. Man führt deshalb die spezifisch schwerere Probelösung von unten in die wasserhaltige Säule ein und verwirft das oben austretende verdrängte „Zwischenkornwasser“. Wenn nur das Filtrat interessiert und nicht die an den Austauscher gebundenen Ionen, so bevorzugt man die partielle Filtration (unter Beachtung von Quellungsänderungen und Adsorption).

Waschung der Säule.

Die auf die Beladung folgende Waschung nimmt man — wieder unter dem Gesichtspunkt des Sparens an Volumen — mit der gleichen oder einer geringeren Strömungsgeschwindigkeit vor. Bestimmend für die Waschung ist die Wanderungsgeschwindigkeit der Ionen im Austauscherkorn. Eine Erhöhung der Durchsatzgeschwindigkeit über eine von der Austauschermarkte abhängige Grenze hinaus bringt nur eine Vermehrung der Flüssigkeitsmenge, aber keinen Zeitgewinn. In manchen Fällen wird die Waschung verbessert, wenn man statt Wasser eine Lösung (verd. HCl) oder ein Lösungsmittel (z. B. Alkohol) anwendet. Zur Vermeidung von überflüssiger Durchmischung von Probelösung und Spülflüssigkeit arbeitet man mit einer einfachen, kippbaren Säule⁶; hierbei wird nach Beendigung der von unten erfolgten Beladung die Säule gekippt und von oben gespült.

Elution — Regenerierung.

Bei der Elution — der Gewinnung der adsorbierten Ionen zwecks weiterer Bearbeitung — und bei der Regenerierung — der Überführung des Austauschers in den Zustand vor der Beladung unter Verwerfung der dabei anfallenden Lösung — verfährt man im einfachsten Falle wie bei der makroanalytischen Anwendung des Ionenaustausches.

Verfolgt man das Ziel, auch bei der Elution mit Lösung zu sparen, um die adsorbiert gewesenen Ionen in möglichst geringem Volumen zu erhalten, so erhöht man die Konzentration der Eluierflüssigkeit, soweit dem nicht eine Grenze gesetzt ist (z. B. 4-n HCl eluiert Fe besser als konzentrierte⁷) oder man erhöht die Temperatur⁸ und führt das Regenerierungsmittel durch einen Verdampfungskreislauf⁹ oder man eluiert mit wirksamen Komplexbildnern (Fe z. B. mit Kaliumoxalatlösung¹⁰). Das zuletzt genannte Prinzip ist besonders in der Austauschchromatographie vielfach angewandt worden.

Elution (Regenerierung) durch Elektrolyse.

Zur Elution fanden wir ebenfalls die Elektrodialyse verwendbar. Die nach den eingangs gebrachten Gleichungen (2) und (5) ablaufenden Reaktionen sind also nunmehr auch von rechts nach links lenkbar. Die geringen, durch die Dissoziation des Wassers vorhandenen Mengen H- bzw. OH-Ionen genügen, um im elektrischen Feld mit hohem Spannungsfälle die an die Austauscher adsorbierten Ionen beweglich zu machen und zu entfernen. Zweckmäßig bildet man den Elektrodialysator derart aus, daß die Mittelkammer eine senkrecht stehende Säule bildet, etwa vom Querschnitt 5×5 mm, getrennt durch seitliche Pergamentmembranen von den beiden 5×2 mm im Querschnitt betragenden seitlichen Elektrodenkammern. Während der Beladung sind diese leer, bei der Elution sind sie wassergefüllt. Das Spülwasser wird aus den Elektrodenkammern in je einen Verdampfungskolben geleitet, verdampft und nach Kondensation im Kreislauf in die Elektrodenkammer zurückgeführt. Man erhält Kationen und Anionen (ohne die flüchtigen, z. B. CO_2) getrennt als Basen bzw. Säuren, ohne den Ballast eines Regenerierungsmittels.

Elution (Regenerierung) von Gemischen von Kationen- und Anionenaustauschern.

Die Elektrodialyse gewinnt besondere Bedeutung für die Elution und die Regenerierung von Gemischen von Kationen- und Anionenaustauscher, die man vielfach zu einer besonders wirksamen Entsalzung anwendet. Was sonst nur mit mindestens zwei Paaren von Kationen- und Anionenfiltern gelingt, vollzieht sich am Misch-austauscher („Mixed bed“ oder

„Monobed“) vervielfacht von Korn zu Korn in schonendster Weise für pr-empfindliche Lösungen. In der Technik müht man sich, die Austauscher nach mechanisch erfolgter Trennung der beiden Sorten jede für sich zu regenerieren, um sie dann wieder zu mischen. Für analytische Zwecke hat man bisher die Regenerierung noch nicht versucht, sondern die wertvollen Austauscher nach einmaligem Gebrauch verworfen. Die Gemische, besonders solche von schwach sauren und schwach basischen Austauschern, lassen sich aber in der Säule elektrodialytisch regenerieren und die hierbei gewonnenen eluierten Ionen sodann analytisch aufarbeiten.

Einige Anwendungsbeispiele für den Ionenaustausch in der Mikroanalyse.

Mit wenigen Worten sollen einige Beispiele für die Anwendung gegeben werden, besonders um jenen Mikroanalytikern, die bisher noch nicht den Ionenaustausch angewandt haben, zu zeigen, was auf diesem Gebiet geleistet wurde oder leicht zu machen wäre. Die erste analytische Anwendung des Ionenaustausches durch *Folin* und *Bell* war bereits mikroanalytisch. Es wurde der zu bestimmende Stoff aus der störenden Substanzen enthaltenden Flüssigkeit abgetrennt¹¹. Die zweite mikroanalytische Anwendung betraf die Anreicherung von Kupferspuren aus destilliertem Wasser zwecks nachfolgender Bestimmung¹². Beide Verfahren der Spurenanalyse wurden mit verhältnismäßig großen Flüssigkeitsmengen durchgeführt. Meinem verehrten Lehrer, Prof. *F. Ruttner* in Lunz am See, verdanke ich den Hinweis auf diese Arbeiten, ich versuchte dann die erste Anwendung des Ionenaustausches im Mikromaßstab, eine mikromaßanalytische Bestimmung von Sulfat nach Entfernung störender Metalle mittels eines silikatischen Austauschers¹³. Der Ermittlung der unteren Grenze der Anwendbarkeit des Ionenaustausches für die Spurenanreicherung diente ein Versuch zur Anreicherung von Radiumionen aus Gasteiner Thermalwasser¹⁴.

In den folgenden Jahren nahm die Zahl der Anwendungen des Ionenaustausches für makro- und mikroanalytische Trennungen und Bestimmungen sprunghaft zu, wobei besonders die Arbeiten von *O. Samuelson* richtungsgebend waren¹⁵.

Mikroanalytisch leicht durchzuführen ist die Bestimmung der Gesamtsalzkonzentration durch Filtration der Salzlösung über einen Kunstharz-Wasserstoffionenaustauscher und Titration der in Freiheit gesetzten Säure mittels Lauge¹⁶. Auch der umgekehrte Weg, Filtration über einen stark basischen Anionenaustauscher und Titration der freigesetzten Base wurde beschritten. Die Bestimmung der Gesamtsalzkonzentration spielt z. B. in der Wasseranalyse¹¹ und für die klinische Medizin¹⁸ eine Rolle.

Mittels Entfernung der Kationen durch H-Ionenaustausch gelangte man zu neuen Methoden der Bestimmung der Verseifungszahl und der Acetylgruppe¹⁹.

Die Trennung der Kationen von den Anionen durch H- oder OH-Ionenaustausch führte zu einem vereinfachten qualitativen Analysengang und zu einer wesentlichen Verbesserung der Analyse von Phosphaten und von anderen Salzen mit Bestandteilen, die die Analyse erschweren.

Die Vereinigung der beiden erwähnten Prozesse, die Entsalzung, ist wichtig als vorbereitender Schritt bei der Analyse von Proteinen oder ihren Hydrolysaten und bei der Untersuchung von Kohlehydraten.

Die Unterschiede in der Säurestärke der Kationenaustauscher führte zu einfachen Gruppentrennungen der Aminosäuren. Auch für die Analyse von Vitaminen und Antibiotica erwies sich der Ionenaustausch vorteilhaft.

Geeignete Vorbehandlung gestattet die Trennung bzw. Bestimmung von Nichteletkrolyten, z. B. von Aldehyden und Ketonen über die Bisulfitverbindungen, von mehrwertigen Alkoholen und Zuckern über die Boratkomplexe.

Die Erkenntnis, daß die Bildung verschieden stabiler Komplexe die Trennung ähnlich reagierender Metalle am Austauscher gestattete, führte zu den Verfahren der Austauschchromatographie, die in der Trennung der Produkte der Urkernspaltung gipfelte.

Ionenaustausch bei präparativen Mikroarbeiten.

Einer der wesentlichsten Vorteile der Anwendung von Ionenaus-

tauschern ist der Umstand, daß sie auf Grund ihrer Unlöslichkeit nach erfolgter Anwendung wieder von der behandelten Lösung abtrennbar sind. Man bringt also nicht nur keinen Überschuß eines löslichen Reagens in die Lösung, der später wieder entfernt werden muß, sondern man nimmt vielfach aus der Lösung Bestandteile heraus, ohne andere dafür hineinzubringen.

Mittels Ionenaustausches gelingen im Mikromaßstab die Herstellung von freien Säuren oder Basen aus Salzen oder die „Konvertierung“, der Austausch eines Kations gegen ein anderes, oder eines Anions gegen ein anderes.

Bei vielen präparativen Mikroarbeiten hat man gebrauchte Säure oder Lauge oder ein Salz schließlich aus einem organischen Präparat zu entfernen, was mittels Ionenaustausches in einem einzigen Arbeitsgang ohne Verlust an Substanz geschehen kann.

Viele katalytische Umsetzungen (z. B. Veresterungen, Anlagerung von Wasser, Abspaltung von Ammoniak), die normalerweise mit Säure oder Alkali durchgeführt werden, können statt dessen mit einem stark sauren oder stark basischen Austauscher in einfacherer Weise durchgeführt werden.

Der Zerteilung der Mikroanalyse in die Arbeit mit Mikroeinwaagen einerseits und die Spurenanalyse mit größeren angewandten Mengen andererseits, hat man bisher keine entsprechende Unterteilung der präparativen Methoden gegenübergestellt. Die bisher besprochenen mikropräparativen Arbeiten entsprechen der erstgenannten Gruppe der Mikroanalyse. Die Spurensuche aber hat als Gegenstück auf der präparativen Seite die Herstellung von Stoffen von besonders großer Reinheit.

Der Ionenaustausch dient hier z. B. der Entfernung von überschüssiger freier Säure oder Base aus einem Salz nach dem Eintragverfahren, der Entsalzung von Lösungen von Nichteлектроlyten, allen voran der Herstellung von reinem Wasser, der spezifischen Herausnahme einer spurenweisen Verunreinigung aus der Lösung eines Elektrolyten, z. B. der Entfernung von Erdalkalitionen aus Alkalisalzlösungen, die der Elektrolyse unterworfen werden sollen, der Carbonatfrei-Machung von Laugen usw., aber auch umgekehrt der Entfernung von ionisierten Verunreinigungen aus trägerfreien radioaktiven Tracerlösungen. In bestimmten Fällen können auch Nichteлектроlyte entfernt werden, z. B. Aldehyd aus Alkohol über einen Bisulfit-Anionenaustausch.

Zusammenfassung.

Es wird eine Übersicht über die Anwendung des Ionenaustausches in der Mikroanalyse gegeben. Die Anwendungsbereiche für das „Eintrag“- und das Säulenverfahren werden abgegrenzt, die Apparate beschrieben, die Grundsätze für die Wahl eines geeigneten Austauschers zusammengestellt, die einzelnen Arbeitsgänge (Vorbereitung der Austauscher, Beladung, Waschung, Elution, Regenerierung) beschrieben und dabei auf die eigenen Arbeiten (Austauschdialyse, elektrodialytische Reinigung und Regenerierung besonders von Gemischen von Kationen- und Anionenaustauschern) eingegangen. Es folgt eine kurze Zusammenstellung von Beispielen für die Anwendung in der Mikroanalyse, bei der mikropräparativen Arbeit und bei der Herstellung von besonders reinen Substanzen.

Literatur.

- ¹ L. Wiklander, *Annals of the Agricultural College of Sweden* **16**, 670 (1949); **18**, 154 (1951).
- ² J. P. R. Riches, *Nature* **158**, 96 (1946). O. Samuelson, *Tek. Tidskr.* **76**, 561 (1946).
- ³ R. Klement, *Z. analyt. Chem.* **186**, 17 (1952).
- ⁴ B. H. Kettle und G. E. Boyd, *J. Amer. Chem. Soc.* **69**, 2800 (1947).
- ⁵ DP. 919 884.
- ⁶ E. Abrahamczik und F. Blümel, *Mikrochim. Acta* **1**, 354 (1937). N. Apple-zweig, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **18**, 82 (1946).
- ⁷ R. Djurfeldt und O. Samuelson, *Acta Chem. Scand.* **4**, 165 (1950).
- ⁸ R. Osmund und L. Wirth, *Ind. Eng. Chem.* **43**, 1076 (1951).
- ⁹ L. D. Frizzell, *Ind. Eng. Chem., Analyt. Ed.* **16**, 615 (1944).
- ¹⁰ O. Samuelson, *IVA* **17**, 5 (1946); zit. nach *Chem. Abstr.* **40**, 5657 (1946).
- ¹¹ O. Folin und R. Bell, *J. Biol. Chem.* **29**, 329 (1917).

- ¹² C. Kullgren, Svensk Kem. Tidskr. 43, 99 (1931).
¹³ E. Abrahamczik und F. Blümel, Mikrochim. Acta [Wien] 1, 354 (1937).
¹⁴ E. Abrahamczik, Mikrochem. 25, 228 (1938).
¹⁵ O. Samuelson, Ion Exchangers in Analyt. Chemistry. New York: Wiley, 1953.
¹⁶ E. Wiesenberger, Mikrochem. 30, 176 (1942).
¹⁷ G. W. Fedorowa, Isvestija VT, 15, Nr. 2, 28 (1946); zit. nach Chem. Abstr. 40, 5509 (1946).
¹⁸ B. D. Polis und J. G. Reinhold, J. Biol. Chem. 156, 237 (1944).
¹⁹ E. Wiesenberger, Mikrochem. 30, 241 (1942).

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/71.

Zeilenanzahl: 338.

Pharmazeutische Abteilung der CIBA Aktiengesellschaft Basel,
Mikroanalytisches Laboratorium.

Unbewußte und bewußte Schätzungsanomalien beim Wägen und ihre Auswirkungen auf die Genauigkeit von Mikroanalysen.

Von

Heinrich Gysel.

Mit 37 Abbildungen.

(Eingelangt am 16. Mai 1955).

Vor zwei Jahren habe ich unter dem Titel: „Unbewußte, individuelle Schätzungsanomalien beim Wägen und ihre Auswirkungen auf die Resultate von Mikroanalysen“¹ einige Untersuchungsergebnisse mitgeteilt. Die große Nachfrage nach Separatabzügen aus vielen und ganz verschiedenen Laboratorien und Instituten zeigte mir, daß dieses neue Thema eine bemerkenswerte Beachtung gefunden hat. Wir erwarteten, und taten das mit Erfolg, daß uns die Tatsache der Schätzungsanomalien durch andere Kreise auf Grund von Nachkontrollen bestätigt wird. Ich machte damals schon den Hinweis, daß die Erscheinung der Vorzugszahlen und Auslaßzahlen überall vorkommt, wo geschätzt wird. Ob wir wägen, an elektrischen Meßinstrumenten arbeiten oder an Büretten die Menisken ablesen bzw. schätzen, spielt keine Rolle. Selbst wenn wir die Analysenresultate mit dem Rechenschieber ausrechnen, zeigen sich, durch das Ablesen am Schieber bedingt, Schätzungsanomalien. (In diesem Falle gehen die Vorzugszahlen unmittelbar ins Analysenresultat ein.) (Siehe die Abb. 1 bis 4.)

Unser jetziges Thema lehnt sich an das frühere an und ergänzt oder festigt bereits mitgeteilte Beobachtungen. Wir betrachten aber auch neue Erscheinungen, die weniger individuell sind und solche Phänomene, die mehr oder weniger *bewußte* Schätzungsanomalien darstellen.

Jede Analysenart hat mehrere psychologische und viele methodische Fehlerquellen, die die Analysenresultate zu beeinflussen vermögen. Es wird sich gelegentlich als notwendig erweisen, alle erfaßbaren psychologischen und methodischen Fehlergrenzen gesamthaft zu betrachten, um die totalen Fehlergrenzen der einzelnen Bestimmungsarten ermitteln zu können. Überschlagsrechnungen zeigen nämlich, daß die Wahrscheinlichkeit sehr groß ist, daß einzelne oder mehrere Prozente aller Analysen falsch sein können oder falsch sein „müssen“. Eine andere Aufgabe, die noch der Lösung harrt, ist das Studium der praktischen Präzisionsverhältnisse bei allen gebräuchlichen Mikroanalysen.

Themen aus dem Mitteilungsbereich meiner ersten diesbezüglichen Publikation, die jetzt nochmals zur Diskussion kommen, sind:

das neue Schätzungsverfahren,
die Konstanz der neuerworbenen Schätzungstendenz,
die Auswirkungen der bessern Skalen an den Mikrowaagen,
Schätzungszahlenstatistik von Wägungen, bei denen die Ablesegenauigkeit größer gewählt wurde als der Empfindlichkeit der benützten Waage entsprach,
Schätzungszahlenstatistiken neuangelernten Personals:

Neuere Themen sind:

Wie wirkt sich eine schlechte Schätzungscharakteristik auf die der geschätzten Zahl vorgelagerte Zahl aus?

Bewirken bestimmte Schätzungsanomalien sekundäre Anomalien?

Bewußte Schätzungstendenzen:

Die größeren Schätzungszahlen (7, 8, 9) werden von vielen Analytikern häufiger geschätzt;

Wie oft wurde bei den Einwaagewägungen die zweite Schätzungszahl größer gefunden als die erste?

Ist bei den Einwaagen die Summe der oberen Schätzungszahlen gleich oder größer als diejenige der unteren?

Wie oft findet der Analytiker bei der Einwaage bzw. bei den beiden dazu gehörenden Wägungen gleiche Schätzungszahlen?

Wie groß ist der Fehler des Durchschnittsanalytikers, wenn er die gleichen Schätzungszahlen bei den Einwaagen anstrebt?

In welchem Ausmaße werden gerade Zahlen den ungeraden vorgezogen?

Das neue Schätzungsverfahren.

Der Erfolg unseres neuen „unfehlbaren“ Schätzungsverfahrens ist gemischt, gut bis sehr gut. Ein kleiner Teil der Analytiker zeigte nach dessen Einführung eine nur kleine Verbesserung der Schätzungszahlencharakteristiken. Eine große Gruppe zeigte dagegen wesentlich verbessertes Schätzen. Eine kleine Analytikergruppe verbesserte ihre Schätzungszahlenstatistiken sogar grundlegend (siehe die Abb. 5 bis 12; es sind die Vertreter der drei Gruppen).

Die Abb. 9 bis 12 zeigen einen Fall, bei dem die Schätzungszahlencharakteristik völlig verändert wurde. Dieser Analytiker war während vieler Jahre durch die Konstanz seiner Schätzungszahlenstatistiken aufgefallen. Durch seine Umstellung hat er aber seine Konstanz verloren. Die Abb. 10, 11 und 12 sind unter sich verschieden, besonders die Schätzungszahlen 2 und 3 sind zahlenmäßig ungleich vertreten. (Die drei Statistiken 10 bis 12 sind das Resultat von drei aufeinanderfolgenden Kontrollen.) Es ist natürlich möglich, daß sich die konstante Gleichförmigkeit der Statistiken dieses Analytikers wieder einstellt.

Bei jener Gruppe, die ihre Schätzungscharakteristiken wesentlich verbesserte, zeigte sich, daß die meisten Vertreter, auf lange Zeit hin betrachtet, ihre Verbesserungen merklich einbüßten (Abb. 6). Der Wille, besser zu schätzen, ist eben verschieden stark, aber durch die Tendenz der Bevorzugung auch verschieden stark gehemmt. Zudem ist dieser Wille von abklingender Intensität. Mehrere der Analytiker erklärten mir, daß sie das bessere Schätzungsverfahren immer wieder vergessen.

Zum Thema verbessertes Schätzungsverfahren möchte ich als Abschluß noch zwei Schätzungszahlenstatistiken zeigen, die eine erfreuliche Beobachtung belegen. Einigen neuangestellten Analytikern und drei anzulernenden Hilfskräften wurde bei ihrem Eintritt in unser Laboratorium das neue Schätzungsverfahren empfohlen. Eigenartigerweise lieferten vom neuen Personal nur diese drei Angelernten gute (in meiner Sammlung bis anhin die besten) Schätzungscharakteristiken. Es scheint viel leichter zu sein, Neulinge zum bessern Schätzen zu erziehen, als eingetübte Spezialisten (siehe die Abb. 13 und 14).

Der Einfluß verbesserter Skalen.

Im ersten Untersuchungsbericht über die Schätzungsanomalien zeigte sich bereits, von welchem großem Einfluß die Schätzungssituation ist. Eine verbesserte Skala, beispielsweise mit einer 5-Mikrogramm-Markierung, muß ganz andere und bessere Schätzungsstatistiken bewirken. Am ausgeprägtesten ist diese Verbesserung beim Vorhandensein eines Nonius. Zu der obigen Frage der 5-Mikrogramm-Skala haben wir noch einige Statistiken zusammengestellt (siehe die Abb. 15 bis 20).

Einer Firma für Präzisionswaagen hat meine letzte Arbeit einen so großen Eindruck gemacht, daß sie sofort daranging, bessere Waagenskalen zu konstruieren. Die Konstrukteure dieser Firma* haben die Mühe nicht gescheut, die neuen Mikrowaagenskalen bis auf 2 Mikrogramm zu unterteilen. Daß diese Verbesserung für das Schätzen von außerordentlicher Bedeutung ist, wird niemand bezweifeln.

* Waagenfabrik Mettler, Zürich, Schweiz.

Wägen mit einer Waage so, daß die Ablesegenauigkeit größer ist als die Empfindlichkeit der Waage.

Die Physiker und Mathematiker lehren uns, daß es sinnlos ist, mit

einem Meßinstrument genauer messen zu wollen, als der Empfindlichkeit oder Genauigkeit des Meßinstrumentes entspricht. Auch ich war Gläubiger, gegen mein Gefühl. Auf Grund unserer Untersuchungen kann ich nun behaupten, daß es sogar sinnvoll sein kann, genauer zu messen als die Genauigkeit des Meßinstrumentes. Der Physiker betrachtet eben das Messen als etwas rein mechanisches, wir aber berücksichtigen, daß es eine menschliche Psyche gibt, die unsere Objektivität an der Grenze der physischen Leistungsfähigkeit mißachtet.

Der Analytiker, dessen Schätzungscharakteristik durch die Abb. 21 und 22 gezeigt wird, arbeitet mit einer Waage, deren Empfindlichkeit höchstens 10 Mikrogramm beträgt. Die Genauigkeit der Wägung bzw. der Schätzung liegt also in der 2. Dezimale (siehe Abb. 21). Nun besteht bei dieser Waage die technische Möglichkeit, genauere Ablesungen, respektive Schätzungen zu machen. Wir führten den Versuch aus, die Wägungen auf 1 Mikrogramm zu schätzen. Der Erfolg dieser Untersuchung war überraschend, wenn man wieder die Statistik der zweiten Dezimale betrachtet. (Die Schätzungszahlenstatistik der 3. Dezimale war naturgemäß sehr schlecht.) Die Erscheinung der bevorzugten und ausgelassenen Zahlen verschwindet nahezu, d. h. die psychischen Tendenzen sind zum großen Teil ausgeschaltet. (Wiederholung und Ergänzung eines früheren Versuches.)

Nach dem vorhergehenden Versuch stellt sich die Frage nach dem Aussehen jener Statistiken, die die 2. Dezimale erfassen, wobei die 3. Dezimale weiterhin Schätzungszahl bleibt. Die Befürchtung, daß sich sehr schlechte Schätzungsstatistiken der 3. Dezimale bis zur 2. Dezimale bemerkbar machen, war gerechtfertigt (siehe die Abb. 23 und 24). Es war eine beruhigende Feststellung, daß alle anderen Kontrollen der zweiten Dezimale, die wir durchführten, wesentlich besser ausfielen. Ein weiteres Problem: Betrachten wir beispielsweise die Abb. 9, dann stellen wir fest, daß dieser Analytiker vorwiegend die Zahlen 0, 2 und 8 geschätzt hat. *Ist es möglich, daß durch derart ausgeprägte Schätzungsanomalien verursacht, bei den durch die Subtraktion erhaltenen Differenzzahlen sekundäre Anomalien auftreten?* (siehe die Abb. 25 und 26).

Ohne daß wir also schätzen, zeigen sich da scheinbare bzw. sekundäre „Vorzugszahlen und Auslaßzahlen“.

Die Abb. 27 bis 33 zeigen eine weitere, sehr häufige Erscheinung: *Die größeren Schätzungszahlen (also die Zahlen 7, 8, 9) werden öfters geschätzt, als zu erwarten ist.* Eine eigenartige und schwer faßbare Anomalie!

Die Abb. 27 ist die gleiche Darstellung wie die Abb. 28, nur mit dem Unterschied, daß die Schätzungsanzahl Null in der Mitte liegt. Es ist so leicht ersichtlich, daß die Zahlen links der Null häufiger vorkommen. Die Abb. 33 zeigt, daß sogar der Analytiker, dem eine Waage mit Nonius zur Verfügung steht, dieser Tendenz, bei Gelegenheit höhere Zahlen zu schätzen, nicht entgeht.

Welches sind die Ursachen dieser Erscheinung? Gibt es, statistisch betrachtet, Unterschiede, wenn wir jede der beiden Wägungen, die es für eine Einwaage braucht, für sich untersuchen?, d. h. läßt sich der Analytiker beim Schätzen der zweiten Schätzungszahl von der ersten beeinflussen?

Beispiel: Einwaage einer Substanz

2. Wägung = 6,37x Milligramm

1. Wägung = 3,298 Milligramm

Einwaage = Differenz

x = Zweite oder obere Schätzungszahl

8 = Erste oder untere Schätzungszahl.

Der Analytiker weiß wie angenehm es ist, wenn er wie im obigen Beispiel, 8 als zweite Schätzungszahl findet ($x = 8$). Denn bei der Berechnung der Differenz heben sich dann die dritten Dezimalen auf. Auch wenn $x = 9$ ist, ist die Subtraktion noch angenehm. Ist x aber 7 oder 0, so ist das Subtrahieren mühsamer. Wenn sich der Analytiker von diesen Überlegungen beeinflussen läßt und beim Schätzen die bequemere Zahl bevorzugt, dann haben wir es mit mehr oder weniger bewußten Schätzungsanomalien zu tun. Es handelt sich um ein Nachgeben zur Bequemlichkeit.

Die Schätzungscharakteristik der Abb. 9 zerlegten wir in zwei Statistiken, so daß die oberen und unteren Schätzungszahlen der Einwaagen getrennt sind (siehe die Abb. 34 und 35). Es ist auffallend, wie oft bei den oberen Schätzungszahlen 8, bei den unteren 2 vorkommt. Eine sofort durchgeführte Kontrolle bei vielen anderen Analytikern zeigte aber keine deutlichen Abweichungen. (Dieser Unterschied in den oberen und unteren Schätzungszahlen bei den Einwaagen kann übrigens nicht sehr groß sein.) Es gibt aber auch Statistiken, die nicht die geringste Differenz aufweisen. Um nun die bewußten Beeinflussungen besser erfassen zu können, wählte ich andere Methoden.

Es besteht unter anderem die Möglichkeit, daß nur bei den oberen Schätzungszahlen die Zahlen 7, 8 und 9 häufiger vorkommen, als bei den unteren Schätzungszahlen. Unsere Untersuchungen konnten das nicht eindeutig bestätigen, weil bei einem Teil der Analytiker die Bevorzugung dieser Zahlen zu unbedeutend ist. Bei anderen ist überhaupt keine diesbezügliche Bevorzugung feststellbar. Wir vermuten, daß die Schätzungscharakteristiken diese Kontrollen stören.

Eine weitere, schon bessere Möglichkeit, die Bevorzugung höherer Zahlen beim Schätzen der zweiten Schätzungszahl der Einwaage zu erfassen, besteht darin, daß man die Summe aller oberen und die Summe aller unteren Schätzungszahlen miteinander vergleicht. Ein großer Teil der Analytiker zeigte nun deutlich, daß sie bei den zweiten Wägungen die Tendenz haben, etwas höhere Zahlen zu schätzen. Eine kleine Gruppe zeigte diese Erscheinung nicht, und einige andere Analytiker neigten eher dazu, die unteren Schätzungszahlen zu hoch zu schätzen. Auch hier vermuten wir, daß die extremen Schätzungscharakteristiken bei diesen Kontrollen stören. Einige Beispiele der großen Gruppen seien hier angeführt. Dazu muß ich erwähnen, daß die Vertreter dieser Gruppe zu verschiedenen Zeiten kontrolliert immer die gleiche Tendenz hatten, die oberen Schätzungszahlen etwas zu hoch zu schätzen.

Die Summe der oberen Schätzungszahlen ist größer als die Summe der unteren Schätzungszahlen beim

Analytiker A: 5,7%
8,1%
6,2%

Analytiker B: 2,9%
6,5%
2,7%

Analytiker C: 6,9%
4,6%
5,7%

Analytiker D: 1,8%
3,6%
3,9%

Wie oft findet der Analytiker bei der Einwaage bzw. bei den dazu notwendigen Wägungen die gleiche Schätzungszahl?

Diese Frage kann am klarsten beantwortet werden. Wir untersuchten die Einwaagen von 15 Analytikern. Nur zwei von diesen zeigen die erwarteten 10% gleicher Schätzungszahlen. (Es sind die bereits erwähnten Neuaugelernten.) Bei den restlichen 13 Analytikern stellen wir fest, daß sie viel mehr Einwaagen mit gleichen Schätzungszahlen aufweisen, als wir erwarteten, nämlich 19,8% im Durchschnitt. (Die theoretische Wahrscheinlichkeit ist 10%.) Der Durchschnitt aller Analytiker ist 18,1%. Das ist überraschend viel.

Der überwiegende Teil der Analytiker erliegt dieser mehr oder weniger bewußten Tendenz beim Schätzen. Wie wirkt sich diese Tendenz nun praktisch aus? Wenn wir die zweite Einwaagewägung machen, erhalten wir eine Schätzungszahl, die entweder größer, gleich oder kleiner ist als die erste Schätzungszahl. Wie wir bereits darlegten, wird die höhere zweite Schätzungszahl kaum einer Tendenz zum Opfer fallen, und die gleiche Schätzungszahl ist erwünscht. Da nun die kleinere Schätzungszahl

bei der zweiten Wägung unerwünscht ist, so wird sie vom Analytiker *bewußt* aufgerundet. Aus diesem Grunde müssen die größeren Schätzungszahlen statistisch betrachtet bei den Einwaagen häufiger vorkommen.

Wieviel Mikrogramm erlaubt sich nun der Analytiker, für diese Tendenz, gleiche Schätzungszahlen zu finden, aufzurunden?

Der Wahrscheinlichkeit entsprechend finden wir:

10% gleiche Schätzungszahlen bei den Einwaagen. In

45% der Einwaagen ist die obere Schätzungszahl größer. In

45% der Einwaagen ist die untere Schätzungszahl größer, und bringt den Analytiker in Versuchung, höher zu schätzen.

Da die Wahrscheinlichkeit 10% beträgt, daß der Analytiker gleiche Schätzungszahlen findet und da der Durchschnitt der von den 13 Analytikern gefundenen Schätzungszahlenpaare 19,8% beträgt, so können wir daraus schließen, daß der Durchschnittsanalytiker mit 1 Mikrogramm der erwähnten Tendenz entgegenkommt. Es sind nur zwei Analytiker in meiner Gruppe, die 3 Mikrogramm und einer der mit ca. 4 Mikrogramm dem Wunsche nach gleichen Schätzungszahlen entgegenkam. Vier Mikrogramm sind bemerkenswert viel, doch dürfen wir nicht vergessen, daß die Tendenz, gleiche Schätzungszahlen zu finden, durch Aufrunden und durch Abrunden angestrebt wird. Das ~~bedeutet~~ weist die Tatsache, daß die Summe der oberen Schätzungszahlen in diesem speziellen Falle nur 4,9% größer ist als die Summen der unteren Schätzungszahlen.

Wenn wir die beiden Einwaageschätzungszahlen gleich groß finden, dann ist die dritte Dezimale gleich Null. Das ist beim Logarithmieren wiederum angenehm, ist es doch leichter bei dieser Manipulation mit 3- oder 4stelligen Zahlen zu arbeiten als mit 4- oder 5stelligen Zahlen.

Wir haben uns noch die Mühe genommen, zu kontrollieren, in welchem Ausmaße bei den Wägungen die *geraden Zahlen* den *ungeraden* vorgezogen werden. Bei einer Analytikergruppe von zehn Mann wurden durchschnittlich 57,6% gerade und 42,4% ungerade Zahlen geschätzt. Nur ein Vertreter dieser Gruppe wählte gleich viel gerade und ungerade Zahlen, je 50,0%.

Graphische Darstellung der Verschiebungstendenz bei den Schätzungszahlen.

Die Abbildung zeigt die lineare Darstellung einer Schätzungscharakteristik, wie sie die Abb. 5 und 7 zeigen. Daraus ist ersichtlich, daß die graphische Verschiebungsgröße für einzelne Zahlen etwas über 2 Mikrogramm betragen kann. Individuell kann sie natürlich größer sein. Die Abb. 37 ist die gleiche Art der Darstellung für eine wesentlich bessere Schätzungsstatistik.

Die Auswirkungen der psychologischen Schätzungsfehler auf die analytischen Resultate.

Bei unseren früheren Untersuchungen stellten wir fest, daß diese Fehler bis zu 4 Mikrogramm pro Wägung betragen können. Dies bedeutet, daß bei einer Kohlenstoffanalyse der Fehler gelegentlich eine Größe von $\pm 0,27\%$ haben kann. Nach den jetzigen Untersuchungen, die zum Teil auch die bewußten Fehler beim Schätzen erfassen, haben wir keinen Grund anzunehmen, daß unsere damals angegebenen Fehlergrenzen zu groß sind. Wir befürchten im Gegenteil, daß dieselben gelegentlich noch größer sein können.

Ohne wesentlich bessere Waagen wird die quantitative Ultramikroanalyse eine problematische Angelegenheit sein. Wenn wir Veröffentlichungen von neuen Mikromethoden lesen und wissen, daß es sich dabei um sehr einwaage-empfindliche Analysen handelt, und es werden Fehlergrenzen von $\pm 0,05\%$ (!) angegeben, dann denken wir an unsere Schätzungsanomalien und staunen.

Zusammenfassung.

Die unbewußten, individuellen Schätzungsanomalien beim Wägen wurden weiter untersucht. Das früher empfohlene Schätzungsverfahren und die verbesserten Skalen an den Waagen haben sich sehr gut bewährt.

Es wird gezeigt, daß es auch mehr oder weniger bewußte Schätzungsanomalien gibt. Die früher angegebenen psychologischen Fehlergrenzen (bis zu ± 4 Mikrogramm pro Wägung und bis $\pm 0,27\%$ bei der C-Bestimmung) dürften stimmen.

Summary.

The inconscientious individual errors in the estimation of numbers on the scale of balances have been further investigated. The method suggested earlier for the estimation and the improved scales of balances have proven to be of great value. It is shown that there also exist conscientious errors. The psychological limits of error published in an earlier paper (up to ± 4 micrograms per weighing and up to $\pm 0.27\%$ in C-determinations) have been confirmed.

Résumé.

On a poursuivi l'étude des anomalies inconscientes et individuelles de lecture des pesées. Le procédé d'évaluation déjà recommandé et les perfectionnements apportés aux échelles des balances ont fait leurs preuves. On montre qu'il existe aussi des erreurs plus ou moins conscientes. Les limites d'erreur psychologiques déjà publiées (jusqu'à ± 4 microgrammes par pesée et jusqu'à $\pm 0,27\%$ pour la détermination du carbone) paraissent correctes.

Literatur.

- ¹ H. Gysel, *Microchim. Acta* [Wien] 1953, 266.

Institut für Medizinische Zellforschung und Genetik, Medizinisches Nobel-Institut, Karolinska Institutet, Stockholm, Schweden.

Quantitative ultramikrospektrographische Verfahren.

Von

Torbjörn Caspersson.

Mit 9 Abbildungen.

(Eingelangt am 16. Mai 1955.)

Das Studium der Prozesse, die in der einzelnen Zelle ablaufen und die Grundlage für die Lebensvorgänge bilden, stellt die Mikrochemie vor eine Reihe spezieller Probleme. Die Objekte, um die es geht, sind besonders klein. Die komplizierte Struktur, die allen lebenden Zellen eigen ist, baut sich aus Elementen auf, deren Größenordnung sich vom Bereich der Makromoleküle — ungefähr $\frac{1}{10} \mu$ — bis hinauf zu einem oder mehreren μ erstreckt. Die Zelle arbeitet, chemisch gesehen, wie eine äußerst komplizierte Maschine, bei der verschiedenen Zellteilen verschiedene Aufgaben zukommen. Bestimmte chemische Prozesse liefern Energie für andere. So wird z. B. durch den Atmungsablauf Energie für die Syntheseprozesse frei, die ihrerseits die Unterlage für so zentrale Funktionen der lebenden Materie schaffen, wie Vermehrung, Wachstum und Differenzierung. Um in die Wirkungsweise des chemischen Strukturaufbaues der Zelle eindringen zu können, ist es natürlich notwendig, dieses heterogene Reaktionsmilieu zu analysieren und die Hauptzüge der chemischen Zusammensetzung von Zellelementen während verschiedener Funktionszustände zu kartieren. Es ist nicht primär erforderlich, mit der Analyse unmittelbar bis in den Bereich der Makromoleküle vorzudringen. Die größeren Organellen der Zelle in durchschnittlichen Tier- und Pflanzenorganismen, von denen man annehmen kann, daß sie spezielle chemische Funktionen ausüben, liegen etwa in der Größenordnung von 1μ (vgl. Abb. 1).

Eine Reihe Bilder von Zellmaterial soll diese Verhältnisse illustrieren.

Die Größenordnung von 1μ , die einem Gewicht von 10^{-12} g entspricht, liegt weit außerhalb des Anwendungsgebietes gewöhnlicher mikrochemischer Arbeitsweisen, und es ist natürlich zu erwarten, daß wirklich quantitative Methoden zumindest recht kompliziert sein werden. Es scheint jedoch unumgänglich notwendig, diesen Weg zu gehen. Unser Wissen von den chemischen Prozessen in lebenden Organismen ist während der letzten Jahrzehnte unerhört erweitert worden, aber der weitaus überwiegende Teil des Beobachtungsmaterials stammt von Untersuchungen in der Milligrammskala und enthält also Millionen von Zellen. Diese Untersuchungen berücksichtigen auf keine Weise das heterogene Reaktionsmilieu in einzelnen Zellen und Zellgruppen. Beurteilt man kritisch das gesammelte Wissen der modernen Biochemie, so zeigt sich schlagend, daß der weitaus überwiegende Teil unseres Wissens auf bestimmte Arten von Prozessen begrenzt ist, und zwar gerade auf solche, für welche die Unversehrtheit der Zellstrukturen keine unumgängliche Voraussetzung ist. Ein klares Beispiel dafür bieten die Atmungsprozesse, die weitgehend in Lösungen oder mit Zellhomogenaten imitiert werden können. Ganz anders liegen die Verhältnisse bei den meisten aufbauenden Prozessen, insbesondere dem zentralen Prozeß in aller lebenden Materie, dem Aufbau neuer Eiweißstoffe, der als Grundlage aller Wachstums- und Vermehrungsvorgänge im Mittelpunkt des Interesses steht. Während der letzten Jahre hat gerade dieser Prozeß an Bedeutung für das Problem des pathologischen Zellwachstums gewonnen. Um tiefer in das Wissen von

solchen strukturbedingten Syntheseprozessen eindringen zu können, ist es offenbar notwendig, die makrochemischen Verfahren durch Methoden zu ergänzen, die die Untersuchung von Elementen im genannten Größenbereich von 1μ zulassen.

Im Prinzip ist es möglich, hierfür verschiedene Wege einzuschlagen:

1. Isolierung bestimmter Zellstrukturen aus so großen Zellmengen, daß sie mit gewöhnlichen mikrochemischen Methoden analysiert werden können.

2. Direkte Bestimmung von Substanzen mit Hochauflösungsmethoden in der intakten Zellstruktur. Ferner

3. ein Kompromißweg, der in Zukunft eine immer größere Rolle spielen dürfte: die Isolierung bestimmter Strukturen aus einer kleinen Anzahl einzelner Zellen und deren Untersuchung mit Hochauflösungsmethoden, wie sie unter 2 genannt wurden.

Die Isolierungsmethoden in der Makroskala sind während der letzten Jahrzehnte sehr entwickelt worden. Die Fehlerquellen sind jedoch außerordentlich groß, und man kann darum positive Resultate nur für gröbere Bestimmungen erwarten, wie für Untersuchungen von Zellelementen, die einen großen Anteil der Zellmasse ausmachen, z. B. von Zellkernen oder Mitochondriensystemen. Die hauptsächlichsten Fehlerquellen liegen in der Herauslösung von Substanz bei der Präparation und dem Risiko der Adhäsion umgebenden Materials an das isolierte Zellelement, z. B. an den Zellkern. Es ist technisch unmöglich, jeden einzelnen der Millionen Zellkerne in einem solchen Präparat mikroskopisch zu kontrollieren. Diese Nachteile hängen in minderm Maß den Methoden an, die unter Ziffer 3 aufgeführt wurden und die außerordentliche Entwicklungsmöglichkeiten bieten. Besonders muß auf die Anwendbarkeit des Infrarotmikroskopes für diese Zwecke hingewiesen werden.

Die unter 2 angeführten Methoden erfordern eine so bedeutende Verfeinerung der chemischen Bestimmung, daß die Messungen am Objekt direkt an dessen Platz innerhalb der Zellstrukturen ausgeführt werden können. Das bringt den außerordentlichen Vorteil, daß Manipulationen mit den minimalen Objekten in den geringst möglichen Grenzen gehalten werden. Ein solches Verfahren bietet die allerbesten Voraussetzungen für die Arbeit mit sehr hoher Auflösung. Aber dieser Vorteil geht auf Kosten der Universalität der Methoden — es dürften kaum andere in Frage kommen als optische — und darum ist das Anwendungsgebiet auf Stoffe mit eigener Absorption in irgendeinem Teil des elektromagnetischen Spektrums begrenzt, soweit solche Absorptionen nicht durch chemische Bindungen oder Färbung erzeugt werden können.

Die Methoden, die im weiteren beschrieben werden sollen, fallen alle unter diese Kategorie. Durch Ausnützen der Analysenmöglichkeiten in großen Gebieten des elektromagnetischen Spektrums kann eine relativ umfassende Gruppe von Untersuchungsverfahren ausgebaut werden.

Ultramikrospektrographische Methoden für quantitative cytochemische Bestimmungen.

In der Cytochemie, wie auch in allen anderen Zweigen der Naturwissenschaft ist die Möglichkeit zu raschen Fortschritten wesentlich an die Entwicklung *quantitativer* Arbeitsmethoden geknüpft. *Qualitative* cytochemische Methoden, die in der Regel auf visueller optischer Analyse von Farbreaktionen basieren, wurden während der letzten 50 Jahre in großem Umfange entwickelt. Aber auf Grund der schwierigen Manipulationen mit Zellmaterial und der außerordentlich kleinen Dimensionen der Objekte haben diese qualitativen Untersuchungen sehr wenig zur Erweiterung unseres Wissens beigetragen, besonders wenn man den großen Arbeitseinsatz auf diesem Gebiet in Rechnung zieht. Diese Verfahren scheinen auch nur in begrenztem Umfang entwicklungsfähig zu sein, und darum soll hier nicht näher auf sie eingegangen werden.

Ein Ultramikrospektrograph für das optische Gebiet ist im Prinzip die Kombination eines Mikroskops mit einem Spektrographen (Abb. 2); mit ihm kann der Verlauf des Absorptionsspektrums sehr kleiner Objekte quantitativ bestimmt werden. Der Hauptteil der Untersuchungen, wie

sie bisher mit dieser Methode — die vor etwa 20 Jahren entwickelt worden ist — durchgeführt wurden, betrafen das Nukleinsäuren- und Eiweißverteilungsproblem unter Ausnutzung der selektiven Absorptionen dieser Substanzklassen im mittleren Ultraviolett (*Caspersson*^{1, 2, 3}).

Mit den modernen ultramikrospektrographischen Methoden kann eine große Anzahl verschiedener Substanzen in Zellstrukturen an ihrem Ort innerhalb der Zelle bestimmt werden. Die Arbeitsrichtung, über die ich im folgenden kurz referieren will, hat von Anfang an das Ziel direkter *quantitativer* Bestimmungen von möglichst vielen verschiedenen Substanzen in diesem Dimensionsbereich verfolgt.

Die Eigenart des Zellmaterials macht es notwendig, daß jede Meßmethode, die für wirklich quantitative cytochemische Aufgaben in Frage kommt, eine Reihe bestimmter Meßbedingungen erfüllen muß, deren wichtigste folgende sind:

1. Auf Grund der Inhomogenität des Zellaufbaues *müssen Zellelemente von der Größenordnung $1 \mu^2$ untersucht werden können*. Arbeit bei geringerer Auflösung hat für die allermeisten cytochemischen Probleme auf Grund der großen Fehler, die durch die Inhomogenität der Präparate entstehen, keinen praktischen Wert. Kleinere Meßflächen als $0,1 \mu^2$ (die leicht im wichtigsten Meßgebiet, dem Ultraviolett, erreicht werden können) haben aus mehreren Gründen keine praktische Bedeutung.

2. Die Meßarbeit selbst und die Präparation für die Messung dürfen dem Objekt nicht so schaden, daß das Meßresultat nicht mehr auf Zellen in natürlichem Zustand übertragbar ist. Dieser Faktor ist von ausschlaggebender Bedeutung für die Konstruktion der Meßapparatur, besonders für den ultravioletten Spektralbereich, und zwingt zur Anwendung äußerst empfindlicher Meßsysteme, relativ langer Meßzeiten und Vorsichtsmaßnahmen verschiedenster Art. Derselbe Faktor bedingt auch die wesentlichen Schwierigkeiten bei der Konstruktion von schnellarbeitenden, voll automatischen Meßapparaturen, und seine Bedeutung wird oft unterschätzt.

3. Die Bestimmung soll in jedem speziellen Fall mit ausreichender und bekannter Genauigkeit durchgeführt werden. Dies setzt gewöhnlich voraus: a) bekannte Genauigkeit der Messung (die von dem messenden Instrument abhängig ist), und b) bekannte Genauigkeit der Meßwertanalyse (die von verschiedenen Faktoren abhängig ist).

Im Bereich der quantitativen Cytochemie, die bisher relativ wenig bearbeitet wurde, gibt es große Problemgruppen, die für Untersuchungsmethoden von nur geringer Genauigkeit zugänglich sind. Alle diese Methoden setzen voraus, daß die Effekte, die gemessen werden sollen — z. B. Konzentrations- oder Mengenunterschiede —, groß sind. Es ist jedoch immer eine Voraussetzung für quantitative Arbeit, daß der *Genauigkeitsgrad* der Messung bekannt ist.

4. Das leichtvergängliche Material verlangt, daß die Arbeit so schnell wie möglich durchgeführt wird und, wie die Erfahrung gezeigt hat, von der Person — in der Regel einem Biologen — die das biologische Material am genauesten kennt und darum am besten beurteilen kann, ob es während der Messungen geschädigt wird und wie solche Schäden vermieden werden können.

5. Da jede quantitative cytochemische Arbeit auf breiterer Basis die gleichzeitige Ausnutzung verschiedener Verfahren verlangt, muß bei Entwicklung jedes einzelnen Verfahrens die mögliche Koordinierung der Arbeit mit anderen Methoden besonders berücksichtigt werden. Damit sind nicht nur rein spektrographische Methoden gemeint, sondern auch Verfahren zur genauesten Bestimmung der Objektdimensionen, der allgemeinen optischen Eigenschaften des Objektes und der optischen Eigenschaften der zu untersuchenden Substanzen unter den Meßbedingungen bei biologischem Material und viele andere Momente.

Zur Erfüllung dieser Bedingungen ist natürlich eine große Anzahl von Apparaturen über die einfachen „punktmessenden“ Spektrographen hinaus erforderlich, d. h. die vorher schon erwähnten Geräte, mit deren Hilfe der Absorptionsverlauf in einzelnen Meßpunkten des Präparates bestimmt werden kann. Optische Spektrographen für Punktmessungen

bis hinunter zum Dimensionsbereich von $0,1 \mu^2$ sind schon vor 1940 entwickelt worden (Caspersson^{1,2}) und wurden in großem Umfange für Untersuchungen von Stoffwechselproblemen der Zelle verwandt (Caspersson³, Moberger²³). Möglichkeiten zur Ausnutzung von Röntgenabsorptionen für Elementaranalysen bei diesen Fragestellungen sind von Engström¹⁶ verwirklicht worden, und das Auflösungsvermögen mit Röntgenmethoden wurde von Lindström¹⁸⁻²⁰ über die kritische Grenze von 1μ hinaus verbessert.

Um die notwendige Geräteentwicklung überblicken und gleichzeitig beurteilen zu können, in welchem Ausmaß hier eine Entwicklungsarbeit begründet ist, soll das für diese Methoden überhaupt in Frage kommende Anwendungsgebiet umrissen werden. Der Dimensionsbereich, in dem die Arbeiten vorgenommen werden müssen, wurde schon erwähnt und ist in Abb. 1 dargestellt. Aus praktischen Gründen ist es zweckmäßig, das Arbeitsgebiet der Ultramikrospektrographie in direkte und indirekte Methoden zu unterteilen. Mit direkten Methoden ist die Bestimmung der Absorptionskoeffizienten von Strukturen *in situ*, also innerhalb der Zelle, gemeint. Indirekte Mikrospektrographie umfaßt die Messung der Absorptionsspektren von Objekten, die mit geeigneten Methoden aus der Zelle isoliert und eventuell in größeren Quantitäten gesammelt worden sind, deren Menge jedoch noch nicht zur Arbeit mit gewöhnlichen spektrographischen Methoden ausreicht. Das Auflösungsvermögen ist darum bei den indirekten Methoden in der Regel weit geringer, aber dafür bieten sie bessere technische Möglichkeiten für die Behandlung mit chemischen Reagenzien, z. B. für die Ultramikrokolorimetrie, und mit Enzymen usw. Die indirekten Methoden erhöhen die Anzahl bearbeitbarer Substanzen erheblich. Theoretisch können solche Reaktionen auch direkt für die Zellstrukturen mit direkter Ultramikrospektroskopie angewandt werden. Praktische Erfahrungen zeigen jedoch, daß die Fehlerquellen bei direkten Messungen solcher Farbreaktionen usw. in der Regel so bedeutend sind, daß sie sich nur selten ausnutzen lassen.

Abb. 3 zeigt den Verlauf der Absorptionskurve für eine 5μ dicke Schicht eines Homogenates aus Säugetiergewebe. Die dicken horizontalen Linien markieren die bisher mit der im folgenden zu beschreibenden Mikrospektrographicausrüstung ausgenutzten Arbeitsgebiete. Die Skala der Wellenlängen ist logarithmisch und erstreckt sich vom Röntgengebiet bis zum Infrarot. Das Auflösungsvermögen der bisher entwickelten Instrumente ist mit + unter dem Diagramm bezeichnet. ++ bedeutet, daß die Auflösung von 1μ erreicht werden kann, die das Minimum für die Arbeit an intrazellulären Strukturen darstellt. Im ultravioletten, sichtbaren und infraroten Wellenbereich wird die Auflösungsgrenze von der Wellenlänge des Lichtes bestimmt, da es theoretisch unmöglich ist, mit der nötigen Genauigkeit das Absorptionsspektrum einer Partikel aufzunehmen, die kleiner ist als zwei- bis dreimal λ . Im Röntgenbereich, wo sich die Technik in schneller Entwicklung befindet, ist das Auflösungsvermögen noch durch technische Faktoren begrenzt. Das Schema illustriert, daß eine große Anzahl im Zellmaterial vorkommender organischer Verbindungen selektive Absorptionen im leichtzugänglichen Teil des Ultravioletts bis hinunter zu $2000 \text{ \AA}$ zeigt, die ausgenutzt werden können. Die besten Beispiele bieten die Nukleinsäuren und die cyclischen Aminosäuren, deren Absorption per Masseneinheit und Konzentration in biologischem Material innerhalb leicht zu bearbeitender Größenordnungen liegt. Diese Tatsache wurde in zahlreichen Untersuchungen über den Nukleotid- und Eiweißumsatz ausgenutzt (Caspersson³ mit Hinweisen). Unter anderen Stoffgruppen von biologischem Interesse mit Absorptionsbanden in diesem Bereich, die in so hohen Konzentrationen vorkommen, daß die resultierenden Absorptionen für die Spektrographie leicht zugänglich sind, können gewisse Sterine, ungesättigte Fettsäuren, Purine, Steroidhormone, Adrenalin mit Vorstadien, Thyroxin und verwandte Substanzen, große Gruppen verschiedener Pigmente und Lignin genannt werden. Im langwelligen Ultraviolett und im kurzwelligen Teil des sichtbaren Spektrums liegen die Banden für zahlreiche Stoffe, die mit Chlorophyll und Hämoglobin verwandt sind. Sie zeigen hohe, schmale und daher leicht meßbare Absorptionsbanden. Ebenso liegen die Verhältnisse bei einer Anzahl von

Atmungsfermenten und Cofermenten, die aber in der Regel in so kleiner Menge vorkommen, daß spezielle Methoden notwendig sind, um ihre niedrigen Absorptionen messen zu können. Im sichtbaren Spektralbereich zeigen wenige Substanzen ausreichend hohe Absorption, um sich für die routinemäßige Spektrographie zu eignen. Chlorophyll, Hämoglobin und ihre Derivate mögen hier in erster Linie erwähnt werden.

Im infraroten Spektralbereich gibt es eine große Anzahl geeigneter Absorptionsbanden, die ausgenutzt werden können. Leider sind in den meisten Fällen die Wellen des infraroten Lichtes zu lang, und das Auflösungsvermögen ist deshalb für intrazelluläre Arbeit unzureichend. Wenn es jedoch nicht darum geht, Zellstrukturen, sondern größere Zellabschnitte und vor allem isolierte Bestandteile aus einer größeren Anzahl von Zellen (indirekte Mikrospektrographie) zu untersuchen, bietet die Infrarotmikrospektrophotometrie außerordentlich gute Arbeitsmöglichkeiten, die im Laufe des Vortrages an Beispielen erläutert werden sollen. Unter $2000 \text{ \AA}$ nimmt die Absorption organischer Stoffe sehr schnell zu. Die selektiven Absorptionen in diesem Bereich werden in erster Linie durch Atomkonfigurationen verursacht, die für biologische Untersuchungen des Zellstoffwechsels von relativ begrenztem Interesse sein dürften. Außerdem nehmen gewisse Meßfehler auf Grund des steigenden Brechungsindex im Material stark zu, und dies erschwert die Deutung der Absorptionskurven. Dieser Bereich ist in Abb. 3 schraffiert dargestellt. Auf der kurzwelligen Seite dieses Wellengebietes findet man Absorptionsdiskontinuitäten, die für ultramikrospektrographische Zwecke ausgenutzt werden können. Sie werden durch Elektronensprünge in den inneren Elektronenbahnen bedingt und können für praktische cytochemische Arbeit angewandt werden.

Welche der in Abb. 3 demonstrierten Arbeitsmöglichkeiten realisiert werden können, ist von der Konstruktion von Apparaten abhängig, die innerhalb der verschiedenen Wellenbereiche die vorher genannten *Meßbedingungen erfüllen*. Es ist offenbar, daß bei einer Ausrüstung, die alle diese Möglichkeiten auszunutzen sucht, die einfachen direkt punktmessenden Ultramikrospektrographen nur einen kleineren Teil ausmachen.

Praktische Möglichkeiten zur Erfüllung der Meßbedingungen.

Die erste der im vorigen Abschnitt genannten Meßbedingungen wird im optischen Gebiet mit größter Leichtigkeit im sichtbaren Bereich erfüllt, wo ausreichende Lichtquellen zur Verfügung stehen und die Objekte in der Regel große Bestrahlungsdosen aushalten. Diese Fakta machen die Konstruktion von Spektrographen für diesen Bereich relativ leicht. Die Anzahl der in diesen Wellenlängen absorbierenden Stoffe ist jedoch so außerordentlich gering, daß dieser Spektralabschnitt nur sehr begrenzte Bedeutung für biologische Probleme hat. Auf die Unzuverlässigkeit der Färbemethoden wurde schon hingewiesen. Im Ultraviolett jedoch liegen die Absorptionsbanden einer großen Menge biologisch wichtiger Substanzen. Hier erscheinen die technischen Probleme in einer ganz anderen Größenordnung als im sichtbaren Gebiet. Übliche Refraktionsoptik läßt das Arbeiten bis hinunter zu $2000 \text{ \AA}$ zu, und der erstrebte Dimensionsbereich von $0,1 \mu$ ist für Routinearbeit erreichbar, vorausgesetzt, daß dem Objekt nicht durch Überstrahlung geschadet wird (Meßbedingung 2). Das Vermeiden von Überbestrahlung des Objektes zusammen mit der Forderung, die Auflösung absehbar über 1μ zu steigern, bildet das Zentralproblem bei der Konstruktion jedes für biologische Zwecke anwendbaren Spektrographen. Die Arbeit mit niedriger Auflösung und mit großen Lichtintensitäten ist dagegen im Ultraviolett beinahe ebenso einfach wie im sichtbaren Wellenbereich, ihr fehlt aber für cytochemische Fragestellungen von größerer Reichweite jede Bedeutung. Im Röntgengebiet erlauben Kontaktmikroradiogramme, die bisher die besten Resultate ergeben haben, eine bessere Auflösung als 1μ (Lindström¹⁹). Eine weitere Verbesserung des Auflösungsvermögens in diesem Bereich kann innerhalb der nächsten Jahre erwartet werden. Diese Technik hat jedoch den Nachteil, daß die Präparate in den meisten Fällen im Vakuum bearbeitet werden müssen.

Meßbedingung 2: Im allgemeinen setzt die Vorbehandlung von

Präparaten für gewöhnliche spektrographische Arbeit eine umständliche Technik voraus, wenn der meßfähige Zustand der Objekte den Verhältnissen im lebenden Material annähernd vergleichbar sein soll. Prinzipiell sind diese Schwierigkeiten in den meisten Fällen überwindbar.

Meßbedingung 3: Um eine Bestimmung mit ausreichender und bekannter Genauigkeit durchführen zu können, ist es zunächst erforderlich, daß die Messung selbst im Spektrographen mit bestimmter Genauigkeit stattfindet und daß weiterhin die Meßwerte mit bekannter Genauigkeit analysiert werden. Das erste Moment wird vom Meßinstrument als solchem bestimmt, das andere setzt folgende weitere Bedingungen voraus:

α) Die optischen Eigenschaften des einzelnen Meßobjektes müssen bekannt sein,

β) der Einfluß einer Reihe spezieller Meßfehler — in erster Linie Fehler durch Lichtbrechung und -streuung — müssen kontrollierbar sein.

γ) Das Objekt muß eine Anzahl recht komplexer Bedingungen optischen Charakters erfüllen und

δ) die optischen Konstanten für die verschiedenen zu messenden Substanzen müssen unter den Verhältnissen bekannt sein, wie sie im Objekt während der Messung herrschen. Die obengenannten punktmessenden Spektrographen erfüllen die Bedingungen α und β , zeigen aber bestimmte Einschränkungen für γ und δ beim Arbeiten im wichtigsten Spektralbereich, dem mittleren Ultraviolett. Für allgemeinere spektrographische Methoden ist es notwendig, als Komplement eine Reihe spezieller Verfahren zu entwickeln, auf die im nächsten Abschnitt hingewiesen wird.

Meßbedingung 4 ist besonders wichtig für die praktische Konstruktion des Meßinstrumentariums.

Meßbedingung 5 verlangt die Entwicklung einer großen Anzahl von verschiedenen Hilfsmethoden. Die meisten sind im Hauptteil unter dem Abschnitt „Praktischer Ausbau der einzelnen Verfahren“ beschrieben. Eine dieser Hilfsmethoden aber muß hier auf Grund ihrer Bedeutung besonders behandelt werden: Die Ausführung absuchender Messungen.

Absuchende Messungen

(multiple Linienabsuchung und Absuchen einer Fläche).

Erfahrungen aus der praktischen Mikrospektrographie in größerer Skala haben gezeigt, daß biologische Probleme im allgemeinen zwei Arten von Meßverfahren verlangen: die schon genannte „Punktmessung“ und die „Flächenmessung“ oder „absuchende Messung“. Diese letzte Bezeichnung soll im weiteren vorgezogen werden. Die Punktmessung gibt Aufschluß über die stoffliche Zusammensetzung eines sehr kleinen Objektausschnittes. Die biochemische Fragestellung verlangt aber oft Bestimmung der Totalmenge einer bestimmten absorbierenden Substanz innerhalb eines bestimmten optischen Querschnittes im Präparat, z. B. einer ganzen Zelle oder eines Zellkernes. Die Technik der Punktmessung würde eine außerordentlich hohe Anzahl einzelner Messungen auf Grund der Inhomogenität des biologischen Objektes erfordern. Man findet jedoch oft, daß der Verlauf der Absorptionsspektren, etwa im mittleren Ultraviolett, innerhalb größerer Zellabschnitte oder für einen ganzen Zellkörper für die verschiedenen Meßpunkte gleich ist. Das bedeutet, daß die prozentuale Zusammensetzung des Objektes in seinen verschiedenen Teilen gleich sein muß, wenn auch die Höhe der Absorptionskurven selbst in praktisch allen Objekten außerordentlich variiert und damit den Inhomogenitätsgrad biologischen Materials widerspiegelt. Die Gleichheit der prozentualen stofflichen Zusammensetzung innerhalb größerer Teile des Objektes ermöglicht eine bedeutende Arbeitsvereinfachung durch die Automatisierung der Messungen. Aus diesem Grunde wurden automatische absuchende Spektrographen entwickelt, die alle die hohe Auflösung von 1 bis $0,1 \mu^2$ zulassen, die das biologische Material erfordert (Caspersson und Mitarb.⁴⁻¹⁵). Sie analysieren einzelne Absuchstrecken, die in wahlfreiem Abstand über das ganze Präparat gelegt werden können (multiple Linienabsuchung), oder sie messen eine ganze Objektoberfläche automatisch (automatische Flächenabsuchung). Der Zeitgewinn durch die automatischen Methoden ist außerordentlich groß, und das ist für das

empfindliche biologische Material von ausschlaggebender Bedeutung. So mußte z. B. früher für eine einzelne gewöhnliche Säugetierzelle zur Totalbestimmung ihres Inhaltes mit der Punktmessungsmethode eine Arbeitszeit von mehreren Tagen aufgewendet werden. Da außerdem in der Regel meist eine große Anzahl von Zellen in einem Präparat untersucht werden muß, ist es offensichtlich, daß mit der automatischen Messung einer der wesentlichsten Faktoren ausgeschaltet werden konnte, der früher die generellen Analysenmöglichkeiten der Ultramikrospektrographie für biologisches Material praktisch eingeschränkt hat.

Abb. 4 zeigt, daß es für die Totalmengenbestimmung keinen anderen Weg gibt, als eine sehr große Anzahl von Messungen mit höchster Auflösung, d. h. mit sehr kleiner Meßfläche, auszuführen. Sie weist ebenfalls auf die Größenordnung der Meßfehler hin, die entstehen, wenn das Auflösungsvermögen der Einzelmessung nicht ausreicht und wenn der Objektausschnitt, der in die Photozelle projiziert wird, inhomogen ist. Die gewählten Zahlen entsprechen den Verhältnissen in durchschnittlichem Säugetiermaterial, und der Fehler von 30% dürfte schon oft bei Meßflächen mit dem Durchmesser von 2 bis 3μ in 5μ dicken Schnitten überschritten werden.

Zwei absuchende Ultramikrospektrographmodelle sind an unserem Institut gebaut worden. Das eine ist besonders für biologische Routinearbeit in großer Skala bestimmt und für das Absuchen von Meßstrecken konstruiert, die wahlfrei durch das Objekt gelegt werden können. Die Registrierung und die Umformung der Transmissionswerte geschieht in einem besonderen Funktionsumformer, der direkt die Totalextinktion längs der abgesuchten Linien angibt. Ein anderes universell anwendbares Spektrographmodell hat außer dieser Anordnung die Einrichtung zur direkten Aufzeichnung der Totalextinktion einer ganzen Fläche. Die Wahl dieser beiden absuchenden Spektrographtypen beruht auf dem Vorkommen von zwei verschiedenen Objektarten bei biologischen Untersuchungen. Die gewöhnlichste wurde in Abb. 5A dargestellt und ist eine Zelle mit unregelmäßiger Kontur, umgeben von Material, das nicht mitgemessen werden soll. Für diesen Objekttyp ist die multiple Linienabsuchung die schnellste Arbeitsweise. Für die selteneren Fälle von Messungen an einem freiliegenden Objekt, z. B. Totalnukleotidbestimmung in freipräparierten Zellen, kann viel Zeit dadurch gewonnen werden, daß die Apparatur direkt eine große Anzahl einzelner Absuchstrecken summiert, die von vornherein in bestimmtem Abstand voneinander angelegt wurden (Abb. 5B). Der in ¹⁵ beschriebene Spektrograph ist mit einer solchen Anordnung ausgerüstet, und das Routinemodell kann ebenfalls mit dieser Einrichtung versehen werden.

Praktischer Ausbau der Instrumentierung für allgemeine quantitative cytochemische Arbeit auf mikrospektrographischer Grundlage.

Die Inhomogenität biologischen Materials verlangt die Konstruktion besonders geeigneter Apparaturen für Punktmessung und automatische Messung, um die Möglichkeiten der direkten Mikrospektrographie für quantitative cytochemische Arbeit auch auf einer allgemeineren Basis für Routineuntersuchungen ausnutzen zu können. Diese Apparate müssen die obenangeführten zentralen Meßbedingungen erfüllen: Die Messung muß mit einer höheren Auflösung als 1μ und mit bekannter Genauigkeit vorgenommen werden, ohne dem Objekt durch Überbestrahlung zu schaden, und das Gerät muß einfach, schnell und leicht zu handhaben sein. Außerdem ist eine Reihe von *Hilfsmethoden* erforderlich. Die wichtigsten haben folgende Aufgaben: Vorbehandlung des Objektes auf solche Weise, daß seine optischen Eigenschaften nach der Behandlung so weit bekannt sind, daß die in einem Ultramikrospektrographen mit bekannten optischen Eigenschaften erhaltenen Meßwerte mit dem gewünschten Genauigkeitsgrad analysiert werden können. Zu dieser Methodengruppe gehören u. a. auch Verfahren für mechanische Isolierung, Mikrodissektion, Ultrazentrifugierung usw. sowie die Methode, in unmittelbarer Nähe des Meßobjektes ein „Freigebiet“ herauszupräparieren, um so einen ausreichend genauen Wert für die einfallende Lichtintensität zu bekommen. Ferner sind Verfahren erforderlich, die Dicke von Mikrotomschnitten zu

bestimmen und zu kontrollieren, sowie die exakten Dimensionen des Objektes festzulegen. Die Notwendigkeit, mit dem gleichen Objekt in verschiedenen Wellenbereichen zu arbeiten, verlangt weitere spezielle Hilfsmethoden. In diesem Fall muß man nämlich bestimmte Punkte im gleichen Objekt bei wiederholten Messungen wiederfinden können. Um die gemessenen Kurven schließlich in ihre einzelnen Komponenten zerlegen zu können, müssen sich die optischen Eigenschaften des Meßobjektes für die Arbeit mit praktisch erreichbaren Mikrospektrograph-aperturen eignen, und die optischen Eigenschaften der beteiligten Substanzen müssen unter realen Meßbedingungen bekannt sein.

Das Zentralinstrument: Der optische Universalmikrospektrograph.

Das absuchende Meßverfahren setzt einen beträchtlichen Apparateinsatz voraus, wenn gleichzeitig die Forderungen für hohe Auflösung und ein Minimum von Objektbestrahlung erfüllt werden sollen. Um Doppelinstallation teurer Apparaturteile zu vermeiden, wurde konstruktiv so vorgegangen, daß in einem Zentralinstrument — dem *Universalmikrospektrographen für Routinearbeiten* — die meisten kostspieligen Details in einer Einheit gesammelt wurden, so daß sie für mehrere verschiedene Arbeitstypen ausgenutzt werden können. Der Universalmikrospektrograph ist nach einem „Baukastensystem“ in der Art konstruiert, daß verschiedene Anordnungen als Zusatzteile eingebaut werden können, wie z. B. die Ausrüstung für Dichroismusmessungen, für die Messung von Modellsubstanzen im Gültigkeitsbereich des *Lambert-Beerschen* Gesetzes, die Anordnung für die Registrierung der Absorption in Abhängigkeit von der Wellenlänge, für die Messung in ultramikrokolorimetrischen Küvetten und die Einrichtung für die elektronische Analyse der Meßwerte. Das hohe Auflösungsvermögen und die Forderung eines äußerst kleinen Meßpunktes zwingen zur Anwendung von Lichtquellen mit höchstmöglicher spezifischer Lichtstärke und zu einem photoelektrischen Meßgerät mit höchster erreichbarer Empfindlichkeit. Die Forderung, daß sowohl beim absuchenden Meßverfahren wie auch bei Punktmessungen unbedingt die gleichen Orte im Objekt mehrere Male hintereinander getroffen werden müssen (z. B. bei Anwendung mehrerer Wellenlängen) bedingt, daß die Objektverschiebung mit einer Reproduzierbarkeit innerhalb der Größenordnung $1/10 \mu$ vorgenommen werden muß. Dies setzt spezielle und mit besonderer Präzision hergestellte mechanische Anordnungen voraus.

Der Aufbau des Gerätes geht aus den Abb. 6 und 7 hervor. In der Beschreibung des folgenden Abschnittes weisen die Buchstaben auf Abb. 6 und die Zahlen auf Abb. 7 hin. Der optische Zentralteil ist in einem außerordentlich stabilen Gußeisenstativ (A) angeordnet, das einen Monochromator (5) mit auswechselbaren Lichtquellen (1 bis 4) in seinem unteren Teil enthält. Im Mittelteil befindet sich die leicht austauschbare Mikroskop- oder Interferenzoptik, sowie die Anordnung für die Verschiebung des Meßobjektes (26, 27). Der obere Teil des Gußeisenstativs enthält die Zentrierungsanordnung für den Meßstrahl (12). Von A gehen Meß- und Vergleichsstrahl zu den Photozellen im Photozellengehäuse B. Der elektronische Teil der Meßapparatur ist im Stativ C gesammelt, wo fortlaufend die Lichtintensität durch das Registrierinstrument (19) aufgezeichnet wird. Bei Punktmessungen dient ein spezialkonstruiertes Oszilloskop (18) als Ausgleichsindikator. Während der Messung wird das Objekt mit Hilfe eines Motors (21) mit frei bestimmbarer Geschwindigkeit durch Hebelbedienung des Beobachters hin und zurück bewegt. Mechanisch wäre es einfacher, während der Messung Teile des optischen Systemes zu bewegen, d. h. das Bild des Objektes an Stelle des Objektes selbst. Aus verschiedenen Gründen (es muß auf die einschlägige Literatur verwiesen werden) wird mit beweglichem Objekt im Ultraviolett eine höhere Meßgenauigkeit erzielt.

Abb. 8A und B zeigen die prinzipiellen Anordnungen bei beiden Meßverfahren.

Mit diesem Instrumentarium können sowohl Punkt- und absuchende Messungen wie auch die automatische Registrierung des Absorptionsverlaufes in einem bestimmten Wellenbereich für einen bestimmten Objektabschnitt erreicht werden. Da Lichtquellen und Optik leicht aus-

tauschbar sind, umfaßt die Apparatur das Gebiet der Wellenlängen von 2000 Å bis zum kurzwelligen Infrarot, und die Arbeit kann in jedem einzelnen Fall mit der höchsten Auflösung durchgeführt werden, die praktisch für Optik innerhalb dieses Spektralgebietes erreichbar ist. Außer für direkte Mikrospektrographie biologischer Objekte eignet sich dieses Gerät auch für Messungen an Mikroradiogrammen der Röntgenspektrographen nach der gleichen Norm, wie sie für Messung biologischen Materials gültig ist. Interferenzoptik läßt sich ebenfalls unmittelbar einschalten, so daß absuchende interferenzmikrophotometrische Bestimmungen durchgeführt werden können¹¹. Direkt an das Instrument kann ein Meßwertanalysator, d. h. ein Funktionsumformer mit Integrator, angeschlossen werden (siehe unten).

Trotz des „Baukastensystems“ erfüllt diese Konstruktion des Universalmikrospektrographen in vielen Einzelheiten die Bedürfnisse der biochemischen Routinearbeit in Bezug auf Stabilität und Bequemlichkeit auf breiter Grundlage. Das Gußeisenstativ *A* wie auch andere Teile des Gerätes sind speziell zum Schutz empfindlicher Details vor mechanischer und thermischer Beanspruchung gebaut. Die Forderung nach Stabilität gegen solche Einwirkungen ist besonders hoch. Die gewählte Konstruktion hat sich in jahrelanger harter Routinearbeit sehr gut bewährt. Andererseits bringt diese Bauweise es mit sich, daß die Apparatur für Entwicklungsarbeit und für gewisse Arten von Spezialmessungen, die seltener im Rahmen biologischer Arbeitsaufgaben vorkommen, weniger geeignet ist. Aus diesem Grunde wurde im Institut ein leicht umzubauender Universalmikrospektrograph¹⁵ entwickelt, der im großen und ganzen nach den gleichen Richtlinien konstruiert wurde, dessen Teile aber alle austauschbar und so leicht wie möglich zugänglich sind. Mit diesem Spektrographen können noch weitere Arbeitstypen, in gewissen Fällen mit noch höherer Präzision, durchgeführt werden. Er stellt aber auch höhere Ansprüche an die Geschicklichkeit der Bedienung.

Ein *Diagramm* zeigt die gesamte Apparategruppe, wie sie am Institut entwickelt und zusammengestellt wurde, um eine Unterlage für allgemeinere cytochemische Arbeitsmethodik zu schaffen. Die einzelnen Verfahren sind der Einfachheit halber in der gewöhnlichen Reihenfolge einer cytochemischen Untersuchung angeordnet und in zwei Gruppen eingeteilt, die teils allgemeine Laboratoriumsmethoden, teils spezielle, für cytochemische Analysen neu ausgearbeitete oder modifizierte Apparate und Verfahren umfassen. Die weitere Darstellung folgt der Aufstellung im *Diagramm*. (Einige Lichtbilder sollen dieses erläutern.)

1. Untersuchung des lebenden Objektes.

Lebendes Material wird zunächst mit den üblichen lichtoptischen, UV-mikroskopischen und interferenzoptischen (z. B. Phasenkontrast-) Verfahren untersucht. Es ist im allgemeinen jedoch zwecklos, spektrographische oder interferenzmikrophotometrische *Meßarbeit* an lebenden Objekten vorzunehmen, und zwar wegen der starken Lichtstreuung und der intraplasmatischen Bewegungen und vor allem wegen der Tatsache, daß einzelne Zellorganellen in lebendem Material zumeist nicht von der Umgebung freizupräparieren sind. Andererseits ist es für optische Mikrospektroskopiearbeit gelegentlich vorteilhaft, wenn nach der Messung an fixiertem Material die Absorptionsverteilung bei einzelnen Wellenlängen in entsprechenden lebenden Zellen verglichen wird. Hierfür ist die photographische UV-Mikrospektrophotometrie aus verschiedenen technischen Gründen besonders geeignet und ihre begrenzte Genauigkeit in diesem Rahmen von untergeordneter Bedeutung.

2. Dimensionsbestimmung des Objektes.

Die Bestimmung von optischen Querschnitten kann an größeren Objekten mit gewöhnlichen photographischen oder projektionsplanimetrischen Verfahren gemacht werden. Für das Studium der endonuklearen Strukturen, die eine große Rolle bei Wachstumsprozessen spielen, mußten besondere Meßmethoden geschaffen werden. In der Aufstellung ist ein spezielles Mikroplanimeter angeführt, das Serienmessungen bis hinunter zur Auflösungsgrenze des optischen Mikroskops erlaubt¹².

Der Apparat kann so angewandt werden, daß er gleichzeitige Messungen größerer Serien von beispielsweise Nukleolen, Kernen und Cytoplasmen derselben Zellpopulation zusammenfaßt. Die Bestimmung der Objektdicke hat bei den meisten Arbeitstypen keine größere praktische Bedeutung. Der Abstand zwischen Objektträger und Deckglas kann bei Schnittpräparaten leicht bestimmt werden, aber die gewöhnliche Schnittdicke biologischen Materials hat wenig mit dem Abstand zwischen Deckglas und Objektträger gemeinsam. In der Regel sind die Präparate ungleich, Ober- und Unterseiten nach Herauslösen des Einbettungsmittels ausgesprochen uneben, und daher fehlt der Messung des Abstandes zwischen Ober- und Unterseite eines Schnittes meist jeder praktische Wert.

3. Die Vorbehandlung des Objektes

geschieht nach verschiedenen Verfahren für verschiedene Zwecke. Für die Arbeit im optischen Gebiet spielt die Gefriertrocknungsmethode eine bedeutende Rolle. Ein großer Teil der bisher durchgeführten ultraviolett-mikrospektrographischen Arbeit hat die Tatsache ausgenutzt, daß bei gefriergetrockneten Präparaten nach Glycerineinbettung die Lichtverluste durch Brechung und Streuung außerordentlich gering gehalten werden können (Caspersson 1940, Einzelheiten vgl. ³). Die Anforderungen an die Qualität von Gefriertrocknungsapparaturen sind sehr hoch. Die besten Resultate wurden mit einer Modifikation des Glick-Malmström-Gerätes²⁴ erzielt. Eine Fehlerquelle von sehr großer Bedeutung ist die Schrumpfung des Objektes durch Fixierung, die bei den meisten Fixierungsmitteln bis zu 50 Vol.-% ausmachen kann. Sehr häufig findet man in Zellen verschiedener Funktionszustände nach der chemischen Fixierung völlig verschiedenartige Schrumpfungszustände. Der gewöhnlichste Weg, dieser Schwierigkeit zu begegnen, besteht darin, nach Möglichkeit nicht die Konzentrationen der absorbierenden Stoffe, sondern die Totalmenge absorbierender Substanzen pro Zelle, d. h. pro metabolische Einheit, zu vergleichen. Dies setzt unter anderem voraus, rasche absuchende Messungen durchführen zu können. Die Fixierungsschrumpfung ist einer der wesentlichsten Gründe für die Schaffung der vorher besprochenen absuchenden Meßapparatur. Für eine Totalbestimmung können mehrere Mikrotomschnitte durch eine einzelne Zelle geführt und dann kann die Gesamtmenge absorbierender Substanz für jeden Schnitt einzeln gemessen werden. In der Regel ist es jedoch bequemer, einzelne Zellen mittels besonderer Methoden von ihrer Umgebung zu isolieren und die Totalmenge in einem Arbeitsgang zu bestimmen. Unter den Vorbereitungsverfahren spielen darum nunmehr die Verfahren zur Isolierung einzelner Zellen eine immer größere Rolle. Bisher wurden hauptsächlich für diesen Zweck mechanische Methoden, wie Mikrodissektion und Ultrazentrifugierung, angewandt, während neuerdings auch chemische Verfahren, darunter besonders enzymatische Isolierung, an Bedeutung gewinnen.

4. Trockengewichtsbestimmung.

Die Absorption von Röntgenstrahlen eines geeigneten Wellengebietes kann für eine Trockengewichtsbestimmung gewöhnlichen biologischen Materials ausgenutzt werden (Engström und Lindström¹⁷). Die Radiogramme, die nach dieser Methode aufgenommen worden sind, können direkt absuchend im Universalmikrospektrographen gemessen werden, der hierfür mit einer Ausrüstung für sichtbares Licht versehen wurde. Der Meßwertanalysator kann so eingestellt werden, daß gleichzeitig mit der Messung die Trockengewichtsmenge des Objektes aufgezeichnet wird.

Ein anderer Weg zur Trockengewichtsbestimmung geht über die Interferenzmikrophotometrie. Die Bestimmung der Weglänge des Lichtes im Interferenzmikroskop ist von Davies et al. zur Trockensubstanzbestimmung verwandt worden. Die Ermittlung des Trockengewichtes eines größeren Objektabschnittes, z. B. in einer einzelnen Zelle, erfordert absuchende Verfahren, die denen der Absorptionsmessungen entsprechen. Eine solche Interferenzmikrophotometrie ist direkt im Universalmikro-

spektrographen nach Einsetzen von Interferenzoptik durchführbar. Der unten beschriebene Meßwertanalysator kann auch in diesem Fall die Meßwerte direkt in Trockensubstanzwerte transformieren und sie in einem Arbeitsgang während der Messung registrieren. Die Röntgen- und die Interferenzmethode ergänzen einander. Das Röntgenverfahren ist innerhalb einer viel größeren Mengenskala genauer und unabhängig von der Vorbehandlung des Objektes. Die Interferenzmethode andererseits ist sehr empfindlich gegen die Vorbehandlung des Objektes, zeigt aber den erheblichen Vorteil, daß das Präparat vor der Messung nicht dehydriert zu werden braucht.

5. Bestimmung von Elementen.

Mikroradiogramme zur Elementaranalyse, die nach *Engströms* Methode aufgenommen worden sind, können auf gleiche Art im Universalmikrospektrographen bearbeitet werden, wie dies für die Trockengewichtsbestimmung beschrieben worden ist.

6. Bestimmung von Absorptionen im optischen Spektralbereich.

Diese Messungen lassen sich im Universalmikrospektrographen mit der vorher beschriebenen Grundausrüstung direkt durchführen. Das Schema enthält außerdem eine Anzahl verschiedener Zusatzteile für spezielle Anwendungsgebiete, die hier nicht näher behandelt werden sollen.

7. Ultramikrokolorimetrische Messungen.

Dieses Gebiet hat sich bisher nur in begrenztem Maße auf biologische Problemstellungen direkt anwenden lassen. Die Apparatur eignet sich jedoch für die Bewertung kolorimetrischer Reaktionen in der Ultramikroskala.

8. Kontrolle gewisser Objekteigenschaften.

Um eine Absorptionsmessung im optischen Gebiet durchführen zu können, müssen die optischen Eigenschaften des beleuchteten Meßobjektes im allgemeinen bekannt sein. Besonders wichtig ist die Kontrolle, ob die Apertur des benutzten Meßgerätes für die spezielle Messung ausreicht sowie die Vergewisserung, daß keine Lichtverluste durch Reflexion im Objekt auftreten. Für diese Kontrollen wurden besondere Geräte entwickelt, die an den Ultramikrospektrographen angeschlossen werden können.

9. Bestimmung der optischen Eigenschaften von Meßsubstanzen.

In der Literatur findet man nur selten Angaben über die Gültigkeit des *Lambert-Beerschen* Gesetzes für so hohe Konzentrationen, wie sie im Zellmaterial vorkommen. Für jede besondere Substanz, die untersucht werden soll, müssen daher solche Messungen im voraus gemacht werden. Diese Messungen stoßen auf beträchtliche technische Schwierigkeiten, weil die Bestimmung in Küvetten mit Volumina von nur einigen μ^3 mit oft sehr hoch viskosen Lösungen durchgeführt werden müssen. Eine besondere Zusatzanordnung in Form einer Linsenküvette (*Svensson*²⁷) wurde zu diesem Zwecke für das Universalmikrospektrophotometer entwickelt. Bei den hohen Extinktionen und großen Substanzkonzentrationen, wie sie in bestimmten Fällen besonders in Zellkernen vorkommen, besteht die Gefahr, daß anomale Dispersion als Fehlerquelle auftritt. Methoden für die Messung der Brechungsindices hoch absorbierender Substanzen wurden von *Svensson* besonders im Hinblick auf Stoffe, die für die Spektrographie von Bedeutung sind, ausgearbeitet.

10. Automatischer Meßwertanalysator, selbstregistrierender Funktionsumformer mit Integrator (*Lomakka*^{21, 22}).

Dieses Instrument kann direkt an den Universalmikrospektrographen angeschlossen werden. Es ist aber auch so ausgeführt, daß es beliebig vom Spektrographen losgekoppelt und zur Analyse schon registrierter Transmissionskurven benutzt werden kann (Abb. 9). Bei der Konstruktion des Apparates wurden die Forderungen der biologischen Routinearbeit nach Auswertungsmöglichkeit großer Versuchsserien weitgehend berücksichtigt. Das Gerät ermöglicht die Umformung gegebener Transmissions-

werte für jede beliebige Funktion und kann also sowohl für Messungen im optischen Spektralbereich, von Röntgenmikroradiogrammen wie auch für Interferenzmessungen angewandt werden. Gleichzeitig mit der Aufzeichnung der der Substanzmenge proportionalen Funktion wird diese laufend so integriert, daß aus der Aufschreibung die Totalmenge absorbierender Substanz direkt ablesbar ist, die der Meßstrahl auf dem Meßweg getroffen hat. Mit einer einfachen Umkopplungsanordnung kann der Funktionsumformer und Integrator für multiple Linienabsuchung und für Flächenabsuchen angewandt werden (vgl. oben).

Aus dieser Darstellung geht hervor, daß der Zweig der Mikrochemie, der sich mit den Elementarstrukturen der Zellen befaßt, welche die lebende Materie aufbauen, ein recht spezialisiertes Arbeitsgebiet ist. Die Ausbildung der Methodik ist hier in besonders hohem Grade von den speziellen Verhältnissen geprägt, wie sie im Zellmaterial herrschen. Es ist undenkbar, daß eine ganz universelle Arbeitsmethodik für dieses Forschungsgebiet entwickelt werden könnte. Aber durch geeignete Koordination einer Reihe von Methoden, die jede für sich den Forderungen der hohen Auflösung und Empfindlichkeit für jede einzelne der zu untersuchenden Stoffgruppen entspricht, kann man zu einem Arbeitssystem mit der wichtigsten Voraussetzung für allgemeine quantitative Forschung im Dimensionsbereich der Zellstrukturen kommen: Außer der Bestimmung einer großen Anzahl organischer Verbindungen mit Absorptionen im optischen Spektralbereich können Trockengewicht und verschiedene Elemente direkt in der Zelle ermittelt werden. Die optischen Methoden haben — wie ich schon ausführte — den außerordentlichen Vorteil des sehr hohen Auflösungsvermögens. Es reicht mit direkter Meßtechnik bis in die nächste Nähe der makromolekularen Dimensionen, und wir haben einen kontinuierlichen Übergang zu den indirekten Methoden, welche die molekulare Konfiguration der Stoffe durch Diffraktionsmessungen verschiedenster Art festzustellen vermögen. Die Begrenzung der direkten mikrospektrographischen Methoden liegt in der Anzahl der zugänglichen Substanzen. Werden aber die Anforderungen an das Auflösungsvermögen um einige Größenordnungen heruntersgesetzt, können die gleichen optischen Verfahren auf „indirekte“ Weise angewandt werden, z. B. unter vielen anderen Möglichkeiten zur Ablesung kolorimetrischer Reaktionen in der Ultramikroskala. Auf diese Art wird eine bedeutende Verbreiterung des Arbeitsfeldes denkbar. Durch Kombination von direkten spektrographischen Methoden mit höchster Auflösung und ultramikrochemischen Verfahren anderer Art, welche die Mikrospektrographen zur Registrierung benutzen und dadurch wesentlich über die Größenordnung der Reichweite gewöhnlicher mikrochemischer Methoden herauskommen, dürfte das Anwendungsfeld der quantitativen Cytochemie zukünftig beträchtlich erweitert werden.

Zusammenfassung.

Die mikrochemische Untersuchung einzelner Strukturen in lebenden Zellen verlangt die Entwicklung von Gruppen spezieller Methoden. Diese Forderung ist in erster Linie durch die minimale Größe dieser Strukturen und ferner durch ihre Empfindlichkeit bedingt. Es wurden verschiedene Wege gegangen, die vor allem auf qualitative Untersuchung zielten, aber infolge technischer Schwierigkeiten doch nur begrenzten Wert haben.

Nunmehr wurde versucht, wirklich quantitative Methoden für das in Frage kommende Dimensionsgebiet zu entwickeln, die sich gleichzeitig speziell für das biologische Objekt eignen sollen. Innerhalb dieses Institutes wurde ein Programm aufgestellt, das die Ausnutzung der optischen mikrospektrographischen Methoden bis an die Grenze ihrer Möglichkeiten für Zellstrukturuntersuchung zum Ziel hat. Durch die Kombination von spektrographischem Messen in verschiedenen Wellengebieten, weitgehende Automatisierung der Meßverfahren und der Werteanalyse, sowie durch Entwicklung einer Reihe von Hilfsmethoden wurde eine Gruppe von Apparaten und Arbeitsverfahren geschaffen, die es ermöglichen, in Routinearbeit eine große Anzahl im optischen Gebiet absorbierender Substanzen mit besserer Auflösung als 1μ in situ zu messen,

Trockengewichtsbestimmungen und die Analyse gewisser Elemente innerhalb der Zellstrukturen durchzuführen.

Literatur.

- ¹ T. Caspersson, Skand. Arch. Physiol. 73, Suppl. 8 (1936).
- ² T. Caspersson, Chromosoma 1940, 562.
- ³ T. Caspersson, Cell Growth and Cell Function. New York: Norton and Co. 1950.
- ⁴ T. Caspersson, Genetica Iberica 2, 277 (1950).
- ⁵ T. Caspersson, Exptl. Cell Research 1, 595 (1950).
- ⁶ T. Caspersson, Exptl. Cell Research 7, 598 (1954).
- ⁷ T. Caspersson, Conf. et Rapp. Congr. Intern. Gyn. et d'Obstr. Vol. 1. Genève 1954.
- ⁸ T. Caspersson, Verh. Anat. Ges., Münster 1954.
- ⁹ T. Caspersson, Anais da Ac. Bras. 26, 529 (1954).
- ¹⁰ T. Caspersson, Exper. 11, 45 (1955).
- ¹¹ T. Caspersson, L. Carlson und G. Svensson, Exptl. Cell Research 7, 601. (1954).
- ¹² T. Caspersson, T. Fredriksson und K. G. Thorsson, Hereditas 49, 201 (1953).
- ¹³ T. Caspersson, F. Jacobsson und G. Lomakka, Exptl. Cell Research 2, 301 (1951).
- ¹⁴ T. Caspersson, F. Jacobsson, G. Lomakka, G. Svensson und R. Sjöström, Exptl. Cell Research 5, 560 (1953).
- ¹⁵ T. Caspersson, G. Lomakka, G. Svensson und R. Sjöström, Exptl. Cell Research Suppl. 3, 40 (1955).
- ¹⁶ A. Engström, Acta Radiol. Suppl. 63 (1946).
- ¹⁷ A. Engström und B. Lindström, Biochim. Biophys. Acta 4, 351 (1950).
- ¹⁸ B. Lindström, Exptl. Cell Research 6, 537 (1954).
- ¹⁹ B. Lindström, Acta Radiol. Suppl. 125 (1955).
- ²⁰ B. Lindström und G. Moberger, Exptl. Cell Research 6, 540 (1954).
- ²¹ G. Lomakka, Exptl. Cell Research 7, 603 (1954).
- ²² G. Lomakka, Exptl. Cell Research, in publ. (1955).
- ²³ G. Moberger, Acta Radiol. Suppl. 112 (1954).
- ²⁴ G. Moberger, B. Lindström und L. Andersson, Exptl. Cell Research 6, 228 (1954).
- ²⁵ F. Ruch, Exptl. Cell Research 2, 680 (1951).
- ²⁶ G. Svensson, Exptl. Cell Research 6, 529 (1954).
- ²⁷ G. Svensson, Exptl. Cell Research, in publ. (1955).

Übersicht über die Ultramikrospektrographie

Verfahren	Instrumente
	Allgemeine
1. Untersuchung des lebenden Objektes.	Übliche lichtoptische Methoden. UV-Mikroskopie. Phasenkontrast.
↓	
2. Dimensionsbestimmung des Objektes.	Übliche lichtoptische Methoden. Interferometrische Bestimmung der Präparatdicke.
↓	
3. Präparation des Objektes.	Übliche histologische Methoden. Mikromanipulation.
↓	
4. Bestimmung des Trockengewichtes („Masse“).	{ Interferenzmikroskopische Punktmessungen.
↓	
5. Bestimmung biologisch wichtiger Elemente.	
↓	
6. Bestimmung von Molekülen in situ, die im optischen Spektralbereich absorbieren. (Direkte Mikrospektrographie.)	{ Infrarotspektrographie in Mikroskala (bei ausreichender Auflösung).
↓	
7. Bestimmung von Substanzen nach bes. Vorbehandlung. (Isolierung, Extraktion oder Kolorimetrie in Ultramikroskala.) (Indirekte Mikrospektrographie.)	{ Infrarotspektrographie in Mikroskala.
↓	
8. Kontrolle gewisser Objekteigenschaften.	
↓	
9. Messung der optischen Eigenschaften aktueller Substanzen.	
↓	
10. Meßwertanalyse.	

ausrüstung für quantitative Cytochemie.

und Methoden	Instrument- kombinationen
Speziell entwickelte oder modifizierte	
Photographische UV-Mikrospektrophotometer. Mikroplanimeter. Bestimmte Methoden der Präparatdickenbestimmung. Gefriertrocknungsapparatur. Methoden zur Kontrolle der Mikrotomschnitte. Hochvakuum-Röntgenspektrograph zur Trockengewichtsbestimmung. Absuchendes Interferenzmikrophotometer. Röntgenspektrograph zur Elementaranalyse.	
Universal-Mikrospektrograph für optische Mikrospektrographie. 2000—2500 Å 2480—3300 Å 3300—Infrarot Dichroismusmessungen Verschiedene Transmissionsbereiche Verschiedene Genauigkeitsmessungen Verschiedene Meßflächen, herunter bis zur Auflösungsgrenze Indirekte Mikrospektrogr. Ultramikrokolorimetrie in Küvetten Ultramikrokolorimetrie in kleinen Tropfen	Punktmessungen Absuchende Messungen
Instrument für registrierende Messungen der Lichtverteilung um das Objekt. „Linsenküvette.“ Refraktometer für Modellsubstanzen in Ultramikroskala. Extinktionskalkulator mit Integrator. Allgemeiner Funktionsumformer mit Integrator.	

Wichtigste Anwendungsbereiche der verschiedenen Methoden der Strukturanalyse.

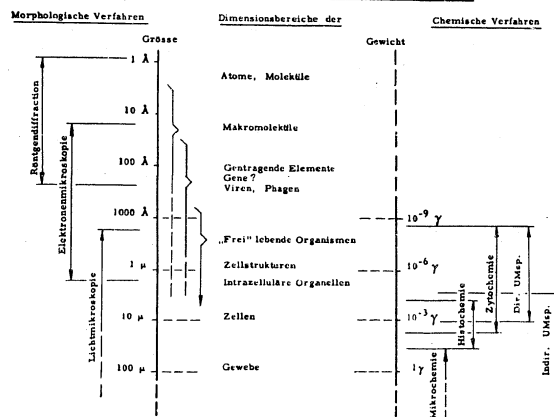


Abb. 1.

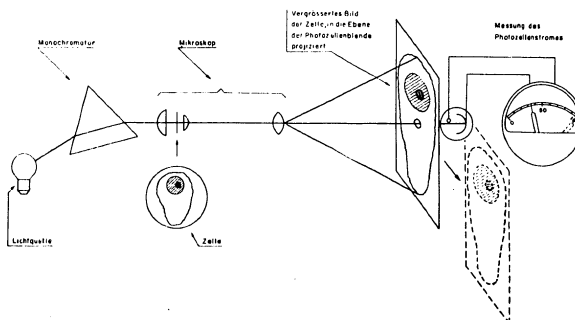


Abb. 2. Prinzipschema der photoelektrischen Ultramikrospektrophotometrie.

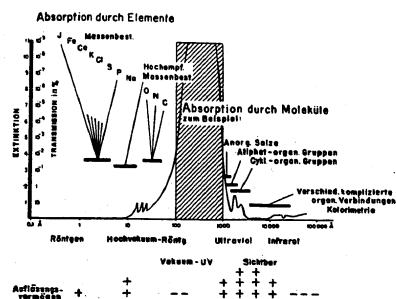


Abb 3. Übersicht über die Anwendungsbereiche der Ultramikrospektrophotometrie.

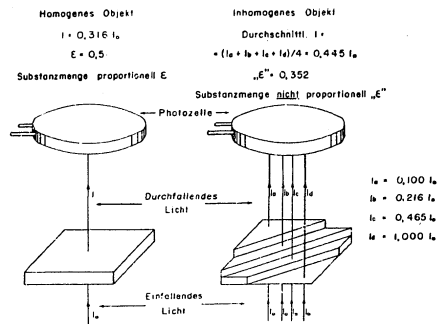


Abb. 4 A.

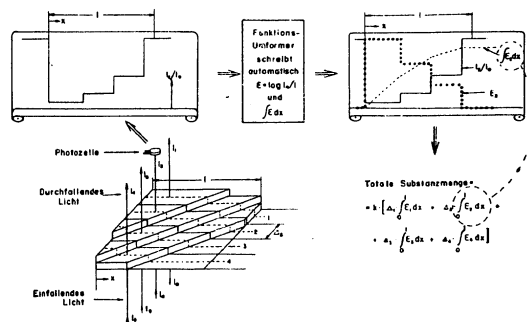


Abb. 4 B.

Abb. 4. Messung am inhomogenen Objekt. A) Fehler, die beim Messen mit zu weiter Photozellenöffnung (zu geringes Auflösungsvermögen) entstehen; B) Vermeidung dieser Fehler durch enge Photozellenöffnung und absuchendes Meßverfahren.

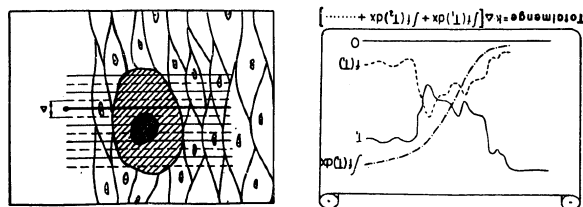


Abb. 5 A.

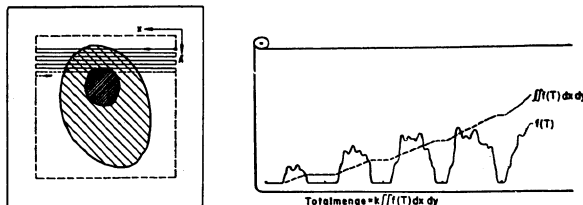


Abb. 5 B.

Abb. 5 A und 5 B. Die beiden typischen Objektarten, die für absuchende Messung in Frage kommen. A) Der gewöhnlichste Typ, der besonders für multiple Linienabsuchung geeignet ist. B) Freiliegendes Objekt auf nicht absorbierendem Hintergrund, das mit dem Flächenabsuchverfahren gemessen werden kann.

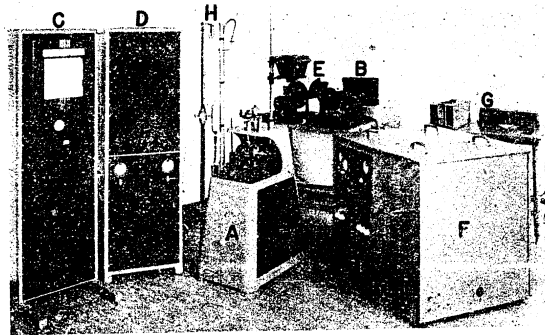


Abb. 6. Aufstellungsbild des Universultramikrospektrographen.

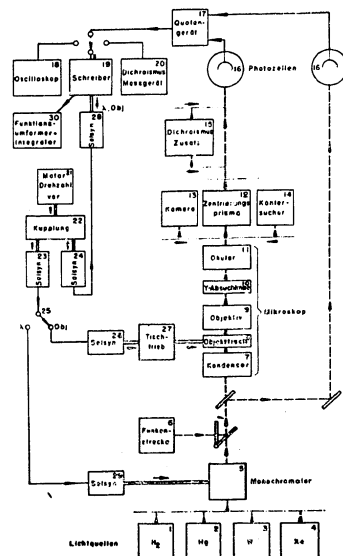


Abb. 7. Blockdiagramm für den Universulmikrospektrographen.

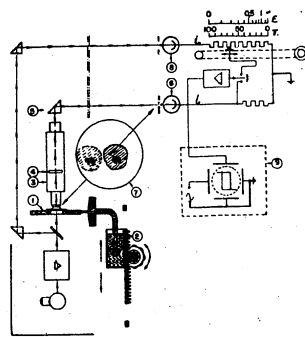


Abb. 8 A.

429 c

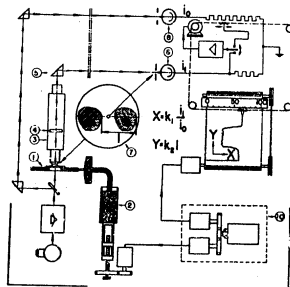


Abb. 8 B.

Abb. 8. A) Prinzip der Punktmessung; B) Prinzip der absuchenden Messung mit dem Universalmikrospektroskop. 1) Objekt, 2) Verschiebungsanordnung für das Objekt längs der X-Achse, 3) und 5) Mikroskop, 4) Anordnung für die Verschiebung der Absuchstrecke längs der Y-Achse, 6) und 8) Multiplikatoren, 7) Gesichtsfeld im Mikroskop, 9) Oszilloskop, Ausgleichsindikator bei Punktmessungen, 10) Motor mit Vor- und Rückwärtstrieb und Servosystem für absuchende Messungen.

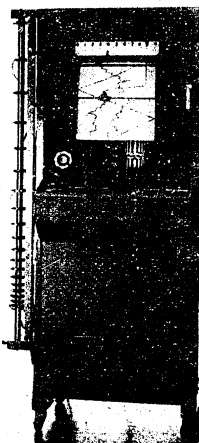


Abb. 9 A.

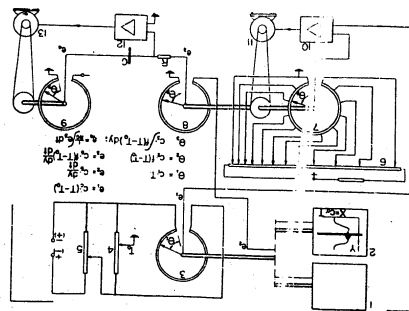


Abb. 9 B.

Abb. 9. Funktionsumformer mit Integrator. A) Aufstellungsbild; B) Kopplungsschema. 1) und 2) stellen die beiden verschiedenen Arbeitsmethoden dar: 1) direkter Anschluß an den Mikrospektroskop (der auch als Plattenphotometer oder Interferenzmikrophotometer) und 2) Analyse einer vorher registrierten Kurve. 3), 4), 5), 6), 7), 8), 9) und 10) Funktionsumformungsgerät. Die umzuformende Funktion wird bei 6), 9) und 12) eingestellt. 12) Integrationsgerät. Die zwei Phasenmotoren 11) und 13) gehören zum x_1 - x_2 -Schreiber (nicht im Diagramm eingezeichnet), der gleichzeitig die umgeformte Funktion u_1 und ihr Integral u_2 aufschreibt.

Aus dem Institut für allgemeine und angewandte Geologie und Mineralogie
der Universität München.

Zur Spektralanalyse kleiner Substanzmengen.

Von

Ekkehard Preuss.

Mit 5 Abbildungen.

(Eingelangt am 16. Mai 1955.)

Einleitung.

Für die verschiedenen Aufgaben der spektrochemischen Analyse wurden verschiedene Anregungsarten entwickelt. Die Analyse nichtleitender Stoffe (Gesteine und Minerale) wird vor allem im Gleichstrombogen zwischen Kohleelektroden durchgeführt. Die ältere Anordnung, die Substanz aus der Anode des Kohlebogens zu verdampfen, hat den Vorteil, größere Substanzmengen auch hochsiedender Stoffe zur Analyse zu bringen. Dagegen bedarf die von *Mannkopff* und *Peters*¹ entwickelte Verdampfung aus der Kathode des Kohlebogens (Glimmschichtmethode, auch Kathodenschichtmethode) nur wesentlich geringerer Substanzmengen, denn durch den charakteristischen Anreicherungseffekt werden selbst sehr kleine Mengen nachweisbar. Die für einen Nachweis erforderlichen Mindestmengen betragen für die meisten Metalle 0,01 bis 0,001 μg , bei einigen auch weniger. Da im allgemeinen 1 bis 3 mg Substanz verwendet werden, ist die Konzentrationsempfindlichkeit sehr hoch. Eine Erhöhung der Konzentrationsempfindlichkeit ist durch Kombination z. B. mit einer fraktionierten Verdampfung^{2, 3} möglich. Wenn andererseits sehr geringe Substanzmengen quantitativ untersucht werden sollen, so ist diese Glimmschichtmethode ebenfalls am geeignetsten.

Aufgabe.

Die Untersuchung eines Meteoriten⁴ erforderte eine sorgfältige Prüfung der Glimmschichtmethode, ob sich die sehr kleinen Mineralkörnchen von Nickeleisen, Troilit und Olivin trotz ihrer Größe von etwa 0,1 bis 0,2 mm einzeln untersuchen lassen. Eine Anreicherung der Mineralkomponenten sollte nicht erfolgen, um jede Verunreinigung auszuschließen. Außerdem sollte das Material zu einer sehr großen Zahl von Aufnahmen ausreichen, damit auch eventuelle Unterschiede zwischen gleichen Komponenten bemerkt werden. Auch sollte eine Zerkleinerung der einzelnen Körner vor der Aufnahme unterbleiben.

Da diese Körner verschiedene Größen haben, ist die erste Forderung für reproduzierbare Aufnahmen, nämlich die nach Anwendung gleicher Substanzmengen, nicht erfüllt. Es mußte deshalb geprüft werden, wie weit Reproduzierbarkeit möglich ist. Die folgenden Ausführungen bringen die Erfahrungen, die bei der Untersuchung dieser speziellen Aufgabe gemacht wurden.

Die Aufnahme sehr kleiner Substanzmengen mit der Kathodenschicht.

Die Aufnahmen wurden mit einem großen Quarzspektrographen gemacht, um den Untergrund gegenüber den Linien möglichst zu verringern. Die übliche Art der Bogenaufnahmen mit der Kathodenschicht ist mehrfach beschrieben⁵. Für die Aufnahme der angegebenen kleinen Substanzmengen mußte diese Technik entsprechend abgewandelt werden.

Kohleelektroden.

An die Reinheit der Kohleelektroden werden höchste Anforderungen gestellt. Die nach dem Verfahren von *Bauer* und *Hörmann*⁶ gereinig-

ten Kohlen werden mechanisch auf die gewünschte Form gebracht (oberer Durchmesser 3 mm, mit Bohrung 1 mm tief, $\frac{1}{2}$ mm weit). Die unvermeidlichen Verunreinigungen z. B. durch den Zimmerstaub werden kurz vor dem Füllen der Bohrung durch einen stromstarken Bogen beseitigt, eine unbedingt notwendige Maßnahme, um letzte oberflächliche Spuren von Ca, Mg, Fe, Cu und Si zu vertreiben⁷.

Substanz.

Die kleinen, nicht zerkleinerten Körnchen werden unter dem Präpariermikroskop ausgesucht und mit einer Nadel in die Bohrung der Kohlelektrode gefüllt. Die Gewichtsbestimmung erfolgt durch Ausmessen oder Wägen. Pulverförmige Eichmischungen werden eventuell mit einer Spur Kohlepulver verdünnt und eingefüllt. Lösungen von ca. 1 μ l können mit den üblichen Mikropipetten bequem auf die Spitze der doppelt ausgeglühten Kohlen gebracht werden. Diese Lösungen können sowohl als Eichlösungen anfallen als auch bei der selektiven Auflösung einzelner Körnchen erhalten werden.

Die Emissionsverteilung in der Kathodenschicht.

Die sehr geringen Substanzmengen beeinflussen den Bogen zwischen Kohlelektroden nicht wesentlich, dagegen kommt der „Glimmschicht-Effekt“ sehr deutlich zur Ausbildung. Im Bogenkern leuchten die Bogen-gase und nur die wenigen Metalle, die eine ausreichend hohe Ionisierungsspannung aufweisen. Metalle mit niedrigerer Ionisierungsspannung sind entsprechend nur in den äußeren und kathodennäheren Gebieten angereichert und zu beobachten. Für sehr leicht anregbare Metalle, z. B. für Kalium (Ionisierungsspannung 4,7 V), liegt die günstigste Anregung in einer Bogenzone von ca. 3000°, d. h. also schon unterhalb der Kathodenspitze. Aus der Lage der Linien läßt sich demnach auf ihren Anregungszustand schließen. Bei der Abbildung der Lichtquelle muß als 0 beachtet werden, daß die Linien der verschiedenen Elemente je nach der Anregungsspannung an verschiedenen Stellen im Bogen leuchten.

Abbildung des Bogens.

Der Bogen wird etwa dreifach vergrößert auf den Spalt abgebildet. Dabei muß besonders darauf geachtet werden, daß auch die Kathodenspitze und die Teile neben dieser auf den Spalt kommen, wozu sich sphärozyklindrische Linsen besonders bewähren. Von den 10 mm Bogenlänge werden nur die 2 bis 3 mm über und 1 bis 2 mm unter der Spitze verwendet. Die Abbildung auf die Optik wurde nur in den Fällen angewandt, wo eine Schwärzungskurve mit einem rotierenden Sektor gewonnen werden sollte.

Auswertung der Spektralaufnahmen.

Die Gehalte wurde nach dem Verfahren der homologen Linien geschätzt, zum Teil durch photometrische Ausmessung der Schwärzung bestimmt.

Bestimmung des Kaliums.

Als besonders schwierig erwies sich wider Erwarten die Bestimmung sehr kleiner Kaliummengen in Feldspat. Infolge der sehr niedrigen Ionisierungsspannung ist Kalium im Bogen schon bei geringen Temperaturen vollständig ionisiert. Es wird deshalb nicht mehr über, sondern schon unter der Kathodenspitze beobachtet. Deshalb wurde der Bogen so abgebildet, daß die Zone neben der Kathodenspitze auf den Spalt fällt (Abb. 1).

Der qualitative Nachweis.

Der qualitative Nachweis ist bis zu sehr geringen Absolutmengen möglich. Dabei ist es vorteilhaft, wenn die Substanz in kurzer Zeit verdampft, damit der Untergrund im Verhältnis zur Linie nicht zu stark wird.

So beträgt z. B. die geringste Nickelmenge, die bei einer Spaltbreite von 30 μ und einer Belichtungszeit von 30 sec unter den gegebenen Bedingungen (lichtschwacher, großer Quarzspektrographen) nachweisbar ist, für die Linie:

3045,01 A	1,5 μg
3064,62 A	0,2 μg
3054,32 A	0,04 μg
3050,82 A	0,008 μg

Dabei wird die Glimmschicht in die Optik abgebildet. Wird sie auf den Spalt abgebildet, sind die Mengen noch geringer.

Die bei „Makro“-aufnahmen verwendeten Nachweislinien müssen für die Untersuchungen geringster Substanzmengen nochmals überprüft werden, da infolge der höheren Bogen Temperaturen Funkenlinien wesentlich stärker als Bogenlinien erscheinen.

Die günstigsten Nachweislinien, die bei einer Prüfung des sichtbaren und des UV-Spektrums (bei einer Dispersion des Glasspektrographen 6 bis 15 A/mm, des Quarzspektrographen 2 bis 10 A/mm) gefunden wurden, sind:

Na I	3302 A	0,005 μg
K I	4044 A	0,1 μg
Mg II	2795 A	< 0,001 μg
Cr I	2677 A	
V I	3284 A	
Mn I	2794 A	0,0005 μg
Co	3453 A	0,005 μg
Ni	3050 A	0,002 μg
Cu I	3247 A	
Ga	2943 A	
Ge	2651 A	0,01 μg
Sn	3175 A	
Pb	2833 A	

Die quantitative Bestimmung, insbesondere der Einfluß der Selbstabsorption.

Die quantitative Bestimmung erfolgt allgemein durch den Intensitätsvergleich von zwei Spektrallinien. Diese müssen eine gewisse Mindestintensität haben, wenn der Fehler der Photometrierung nicht zu groß werden soll. Während man bei den gewöhnlichen „Makroaufnahmen“ mit mehreren mg Substanz genügend Linien zur Auswahl hat, ist dies bei den „Mikroaufnahmen“ nicht mehr der Fall. Es müssen auch die stärkeren Linien herangezogen werden, die bei „Makroaufnahmen“ vermieden werden, da sie durch Selbstabsorption und Selbstumkehr geschwächt und deshalb konzentrationsunempfindlich werden.

Deshalb mußte untersucht werden, wie weit die Selbstabsorption auch bei den geringen Substanzmengen von wenigen μg noch zu Störungen Anlaß gibt. Dabei zeigte sich, daß noch eine deutlich merkbare Selbstabsorption eintritt. Dies hat vor allem seinen Grund darin, daß die Substanz in der Kathodenschicht in wenigen $\frac{1}{10}$ mm Höhe angereichert ist und in kurzer Zeit verdampft. Diese Selbstabsorption wäre ohne störenden Einfluß und ließe sich eliminieren, wenn die bei jeder Aufnahme verwendeten Substanzmengen gleich wären und auch unter den gleichen Bedingungen aufgenommen würden. Es schwankt aber die Intensität der zur Photometrierung ausgewählten Linien höherer Intensität, da 1. die Substanzmengen wechseln (verschiedene Körnchengröße) und 2. ungleichmäßige Verdampfung beobachtet wird. Z. B. zeigen Aufnahmen von einem Mineralkörnchen und von der gleichen Menge Pulver gemischt mit etwas Kohlepulver verschiedene Intensitätsverhältnisse, da die Verdampfung verschieden erfolgt. Entsprechend der von W. Gerlach und Schweitzer in dem „Fixierungspaar“ festgelegten Idee, die Gleichartigkeit der Aufnahme an dem Intensitätsverhältnis bestimmter Spektrallinien zu prüfen und danach die Arbeitsvorschrift festzulegen, muß jetzt auch die Selbstabsorption zur Charakterisierung der Aufnahmebedingungen herangezogen werden.

Hierdurch kann die mittlere Konzentration, d. h. die Dampfdichte im Bogen beschrieben werden. Ähnlich wurde auch versucht, die Temperatur durch den „Anregungswert“⁸ anzugeben.

Die Messung des Selbstabsorptionswertes an Multipletts.

Der Betrag der Selbstabsorption läßt sich an Multipletts, speziell an Dubletts vorzüglich bestimmen. Über Linienabsorption und Gesamt-

absorption der Kupferresonanzlinien sowie über die Intensität der Resonanzlinien in Abhängigkeit von der Konzentration berichten Arbeiten von Schnautz und Mannkopf^{9, 10}. Sie zeigen, daß das Intensitätsverhältnis I_1/I_2 zweier Spektrallinien eines Dubletts (Kupfer) mit zunehmender Konzentration von 0,005 bis 0,5% abnimmt von 2 bis fast 1. Der Grenzwert 2 wurde im Bogen nur bei sehr geringen Konzentrationen erreicht.

Das Intensitätsverhältnis gibt uns also ein Maß für die Dampfdichte. Wenn beispielsweise sehr geringe Substanzmengen verdampfen, so erhält man Dublettlinien von geringer Intensität. Trotzdem wird das Intensitätsverhältnis je nach der Verdampfungszeit verschieden sein. Es kann bei sehr schneller Verdampfung nahe an 1 liegen.

Diese Bestimmung des Selbstabsorptionswertes ist nicht nur für die „Mikroaufnahmen“ wichtig, sie kann auch bei den „Makroaufnahmen“ wichtig werden. Denn sobald eine fraktionierte Verdampfung der einzelnen Komponenten eintritt, wird auch die Verdampfungszeit wichtig. So gibt Hg, daß aus einer flachen Bohrung verdampft wird, infolge seiner kurzzeitigen hohen Dampfdichte eine schwache, allerdings verbreiterte Linie, bei einer tiefen Bohrung dagegen verdampft die gleiche Menge in einem längeren Zeitraum und gibt deshalb stärker geschwärmte Linien.

Bestimmung der Eichkurve aus dem Dublettverhältnis.

Die Verwendung des Dublettverhältnisses zur Bestimmung und Kontrolle der Eichkurve ist bekannt. Werden z. B. aus verschiedenen Eichproben 2 Eichkurven für die 2 Linien eines Dublett gewonnen, so ist der Abstand der beiden Kurven gemessen auf der Konzentrationsachse im ganzen Intensitätsbereich gleich. Z. B. im Falle des Kupfers (3247 und 3274) = 2 entsprechend dem Gewicht der beiden Linien.

Es liegt andererseits nahe, die Bestimmung der Konzentration dadurch zu versuchen, daß man aus dem Dublettverhältnis auf die Substanzmenge schließt, also gewissermaßen die „Gouysche“ Kurve^{9, 10} benutzt. Dies ist aber bei der Bestimmung kleiner Körner wegen der wechselnden Verdampfungsgeschwindigkeit und des dadurch wechselnden Dublettverhältnisses nur mit Vorbehalt möglich.

Die Abhängigkeit des Intensitätsverhältnisses von der Substanzmenge am Beispiel der Nickel- und Eisenbestimmung.

Wenn keine Multipletts gemessen werden können, müssen andere für die photometrische Messung günstige Linien im Spektrum gesucht werden. Unter anderem sollten die Nickelgehalte in den Nickel- und Eisenmeteoriten (kleine Körnchen von 1 bis 50 μg) bestimmt werden, deren Gehalte bei 5 bis 50% Nickel liegen. Deshalb wurden mehrere Nickel- und Eisenlinien sowohl in Meteoriten wie auch in Nickel-Eisen-Legierungen und in Nickel-Eisen-Lösungen gemessen.

Abb. 2 zeigt im unteren Teil die Abhängigkeit der Intensität ($Y = \log I$) von der Menge des Nickels in der auf die Kohlespitze gegebenen Lösung. Diese Menge verdampft in 30 Sekunden. Die Intensitätszunahme wird wie erwartet bei größeren Substanzmengen immer geringer. Deshalb wurde im oberen Teil das Intensitätsverhältnis angegeben, das bereits bei der geringen Menge von 1 μg deutliche Abnahme zeigt. Die Y-Kurven laufen anfangs unter 45°, doch nur einige Linien behalten diese Steigung bis zu höheren Mengen. Deshalb wurden in Abb. 3 u. 4 Messungen an verschiedenen, zwischen 1 und 25 μg wiegenden Nickel- und Eisenkörnern einer künstlichen Legierung so aufgetragen, daß Ni 3097 A bzw. Fe 3040 A einen geraden Anstieg gibt. Als Abszisse wurde z. B. die Intensität von Nickel 3097 A gewählt, da eine ausreichend genaue Bestimmung der Substanzmenge nicht möglich war. Die Kurven zeigen, daß vor allem die Linie Nickel 3050 schon bei sehr kleinen Mengen über 1 μg nicht mehr den erwarteten Intensitätsanstieg zeigt. Das gleiche wurde in Abb. 4 für einige Eisenlinien im gleichen Spektralgebiet gefunden. Der Vergleich der Abb. 3 und 4 zeigt, daß für die Gehaltsbestimmung nur Nickel- und Eisenlinien verwendet werden können, die auf eine Änderung der Substanzmenge in gleicher Weise ansprechen.

Um Eichkurven für die Nickel-Eisen-Bestimmungen zu erhalten,

muß also die Substanzmenge und auch die mittlere Verdampfungszeit berücksichtigt werden. Dies ist in Abb. 5 erfolgt, in der die verschiedenen Nickelgehalte bzw. Nickel- und Eisenverhältnisse für 10 bis 30 μg Gesamtsubstanz aufgetragen sind. Die Intensität der verschiedenen Eisenlinien, die aus den Eichaufnahmen erhalten wurde, ist als Ordinate gewählt und die Intensität der Nickellinien bei den verschiedenen Gehalten darin eingetragen. Infolge der nach einer linearen Zunahme des Nickel-Eisen-Verhältnisses gewählten Abszisse steigt die Intensitätskurve für die schwächeren Nickellinien etwa unter 45°. In gleicher Weise wurden die Kurven für kleinere und größere Substanzmengen bestimmt, die von der Kurve Abb. 5 abweichen. Welche der Eichkurven jeweils zur Auswertung verwendet werden müssen, wird aus dem Intensitätsverhältnis der Eisenlinien zueinander leicht erkannt. Es tritt gewissermaßen das Intensitätsverhältnis der verschiedenen Eisenlinien an die Stelle des Dublettverhältnisses. Beide dienen also zur Angabe des Selbstabsorptionswertes.

Die Selbstabsorption und Selbstumkehr der Linien wurde bei späterer Gelegenheit an Gitteraufnahmen geprüft, die eine Auflösung von 0,05 Å haben. Dabei zeigte sich, daß einige sehr schwache Eisenlinien, die bei den üblichen Aufnahmen im Quarzspektrographen nichts Auffälliges zeigen, deutlich selbstumgekehrt sind.

Nach der Prüfung der verschiedenen Linien in der oben angegebenen Weise ist es dann leicht, bestimmte Linienpaare für eine Gehaltsbestimmung herauszusuchen, die bei den Serienanalysen gemessen werden.

Zusammenfassung.

Die qualitative und quantitative spektrochemische Analyse kleiner Substanzmengen, z. B. von Mineralkörnern in der Größenordnung von 1 bis 30 μg ist durch die Kathodenschichtmethode nach *Mannkopff* und *Peters* möglich. Die qualitative Analyse erfordert eine Abbildung des Bogens, die die speziellen Leuchteigenschaften der verschiedenen Elemente in der Kathodenschicht beachtet. Die quantitative Analyse verlangt verschiedene Eichkurven, um die verschiedene Selbstabsorption der zur Gehaltsbestimmung verwendeten Linien auszugleichen. Diese Unterschiede werden durch die wechselnde Substanzmenge und eventuell wechselnde Verdampfungsgeschwindigkeit bedingt. Zur Kontrolle dieser Verhältnisse empfiehlt sich die Bestimmung eines Selbstabsorptionswertes, am besten aus dem Vergleich von Multipletts, der über die (mittlere) Dampfdichte Auskunft gibt.

Literatur.

- ¹ R. Mannkopff und Cl. Peters, Z. Physik 70, 444 (1931).
- ² E. Preuß, Z. angew. Mineral. 3, 8 (1940).
- ³ K. H. Wedepohl, Geochim. Cosmochim. Acta 3, 93 (1953).
- ⁴ E. Preuß, Fortschr. Mineral. 28, 63 (1949).
- ⁵ R. L. Mitchell, The Spectrographic Analysis of Soils, Plants and Related Materials. Commonw. Bur Soil Science, Techn. Comm. No. 44 (1948).
- ⁶ E. Preuß, Chemie d. Erde 9, 365 (1935).
- ⁷ E. Preuß, Spectrochim. Acta 5, 327 (1952).
- ⁸ E. Preuß, Z. angew. Mineral. 1, 167 (1938).
- ⁹ H. Schnautz, Spectrochim. Acta 1, 173 (1939).
- ¹⁰ R. Mannkopff, Spectrochim. Acta 1, 197 (1939).

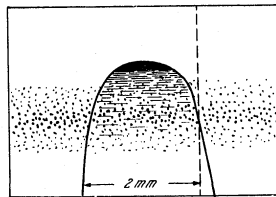


Abb. 1. Emissionsverteilung der Linie Kalium 4043/47 vor der Kathode bei 9 A (gepunktet). Auf den Spalt abgebildeter Teil des Bogens gestrichelt - - -).

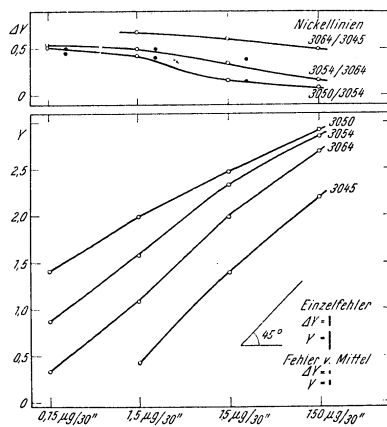


Abb. 2. Abhängigkeit des Intensitätsverhältnisse (ΔY) und der Intensität (Y) einiger Nickellinien von der Menge. Kohlebogen 9 A; Kathode 3 mm ϕ ; Abbildung auf Optik; Lösung.

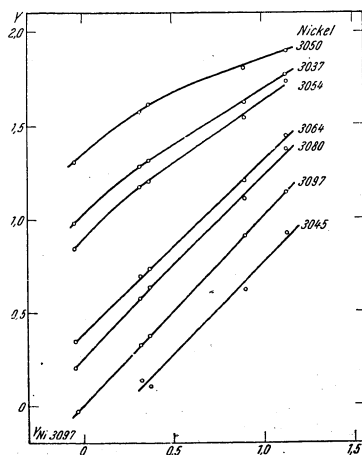


Abb. 3. Intensitätskurve für Nickellinien aus 5 Ni-Fe-Legierungen mit ca. 1—25 μg Ni.

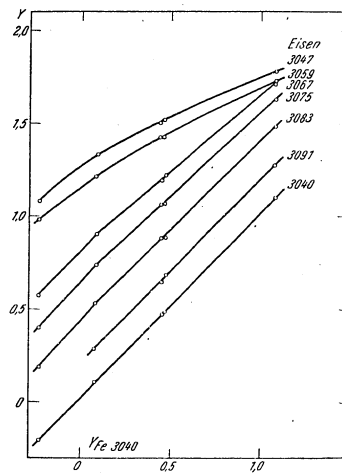


Abb. 4. Intensitätskurven für Eisenlinien aus 5 Ni-Fe-Legierungen mit ca. 2–50 µg Fe.

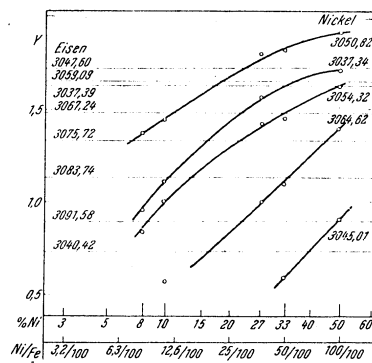


Abb. 5. Eichkurven für Nickel in Eisen bei Verdampfung von 10–30 µg Substanz innerhalb 30 sec.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/74.

Zeilenanzahl: 350.

Aus dem Institut für Erdölforschung in Brünn, C. S. R.

Systematische chromatographische Mikroanalyse der Gase.

Von

Jaroslav Janák.

Mit 6 Abbildungen.

(Eingelangt am 14. Mai 1955.)

Die Chromatographie als analytischer Behelf erfuhr im Laufe der letzten 20 Jahre eine merkliche Entwicklung und Verbreitung. Die Methodik der chromatographischen Trennung von Gasgemischen gehört jedoch unter die jüngsten Anwendungsformen. Ein sehr wirksamer Trennungseffekt und die Notwendigkeit, nur mit geringen Mengen arbeiten zu müssen, charakterisiert die chromatographische Trennung von Gasgemischen als Halbmikro- und Mikromethode. Ältere Arbeiten, die Adsorptionserscheinungen für die Analyse von Gasgemischen ausnützen, wurden bis zum Jahre 1951 an anderer Stelle zusammengefaßt⁵. Zu diesen kommen einige weitere wichtige Arbeiten aus neuerer Zeit^{3, 8, 29, 31, 33–35, 43}.

Die sich mit der chromatographischen Trennung der Gase und flüchtiger Stoffe befassenden Arbeiten tendieren hauptsächlich nach zwei Richtungen: Einerseits wird die Verdrängungsmethode benützt, wobei die einzelnen Komponenten eines Gasgemisches nacheinander je nach ihrem Adsorptionsvermögen durch eine stärker adsorbierbare Komponente verdrängt werden^{3, 6, 8, 10, 29, 31, 33, 34, 41}. Andererseits benützt man die Elutionsmethode, wobei die Bewegung eines bestimmten Gases innerhalb der chromatographischen Säule durch ein strömendes Trägergas verursacht wird. Im ersten Falle werden die Erfahrungen der Frontal- sowie der Verdrängungschromatographie verwendet. Die zweite Möglichkeit bildet einen Spezialtypus der Verteilungschromatographie; es wird die Verteilung des gegebenen Gasgemisches zwischen zwei heterogenen Phasen ausgenützt, d. h. zwischen der stationären festen Phase — dem Adsorbenten^{1, 4–6, 18–24, 27, 28, 30, 35–37, 39, 43–47} —, oder der stationären flüssigen Phase — einem mit Flüssigkeit beladenen Träger^{2, 9, 12–16, 25, 26, 29, 30} und der mobilen Phase — dem Trägergas.

Als Adsorbens werden hauptsächlich Aktivkohle^{3, 4, 6, 8, 17, 20, 29, 30, 34, 35}, Silikagel^{4, 13, 17, 20, 28, 30, 36} und Tonerde^{17, 28}, als stationäre Flüssigkeitsphase wenig flüchtige Ester der Phthalsäure^{2, 25, 30}, Kohlenwasserstoffe^{2, 13, 25} bzw. polare Lösungsmittel^{2, 13} gewöhnlich an Kieselgur verwendet. Als Trägergas dienen Luft^{35, 36, 43}, Wasserstoff^{4, 5, 28, 34}, Stickstoff^{2, 6, 13, 16, 28–30, 36}, Kohlendioxyd^{17, 20, 28, 31, 33, 39} u. a. Die Bewegung der Gaszonen innerhalb der chromatographischen Säule wird durch die Temperatur beeinflusst, indem man durch Verschieben eines Ofens^{20, 34, 43} oder eines Kühlbades^{8, 41} verschiedene Temperaturen einstellt.

Die Bestimmung der Qualität der chromatographischen Säule verlassenden Gase wird meistens indirekt durch Messung der Wärmeleitfähigkeit^{2, 3, 5, 6, 8, 28, 29, 30, 34, 41}, interferometrisch^{31, 33, 34} oder direkt durch chemische Analyse^{13, 33, 35} vorgenommen. Die quantitative Auswertung der Chromatogramme wird aus der Höhe der Elutionsknicke oder durch Planimetrieren der Elutionskurve durchgeführt. Je nach den Besonderheiten der Technik werden von den Autoren nach Spezialausdrücke gebraucht, wie z. B.: „Chromatographie in der Gasphase“^{10, 27}.

„Verteilungschromatographie Gas-Flüssigkeit“¹³, „Chromathermographie“¹⁴, „Adsorptionsspektralanalyse“¹⁵ usw.

Die ersten Arbeiten über die Gaschromatographie sind unsystematisch und befassen sich meistens mit Stoffpaaren oder mit eng umgrenzten Stoffgruppen, sind aber wegen ihrer Arbeitstechnik sehr wichtig. Erst in den letzten zwei Jahre beginnen ausgedehntere Studien zu erscheinen. Bisher sind jedoch keine Gesetzmäßigkeiten bekannt, die eine Voraussage über Trennungsmöglichkeiten oder die Wahl optimaler Kolonnen ermöglichen würden.

Theoretische und praktische Ergebnisse unserer Forschungen in den Jahren 1951 bis 1955 führten zum Aufbau einer automatisch registrierenden Apparatur — des Gaschromatographen — und ermöglichten damit eine schnelle und direkte qualitative und quantitative Mikroanalyse der Gase. Durch die Definition des chromatographischen Gasspektrums und dessen Durchmessen wurde die Vorhersage der Trennungsmöglichkeit verschiedener Gase und die Errechnung optimaler Kolonnen für die gewünschte Trennung beliebiger Gasgemische ermöglicht. Damit ist die Grundlage zur systematischen chromatographischen Gasanalyse gegeben. Es gelang uns dann auf diese Weise zum erstenmal, eine ganze Reihe von Gasen und flüchtigen Stoffen wie, z. B. Permanentgase, Edelgase, Freone, verschiedene gasförmige Kohlenwasserstoffe, Halogene usw. zu trennen.

Der Chromatograph mit automatischer Registrierung.

Bei unserem Verfahren der Gaschromatographie^{17, 20} werden als Trägergas hauptsächlich Kohlendioxyd, als Adsorbens trockene Aktivkohle, Silikagel, Tonerde, evtl. mit Lösungsmittel versetzte Kieselgur benutzt.

Die Apparatur (Abb. 1) besteht aus Hilfsgerät, Meß- und Adsorptionssystem und Indikationseinrichtung. Die Hilfsapparatur enthält die Quelle des Trägergases, Druckregler und Strömungsmesser. Die Meß- und Adsorptionsapparatur besteht aus einer Mikrobürette mit Zubehör und aus einem System zweier oder mehrerer chromatographischer Kolonnen. Das Indikationssystem enthält ein Azotometer, Sammel-Auftriebsglöckchen, Waagebalkengerät mit Spiegel, Spaltlampe und rotierende Trommel mit photographischem Papier*.

* Dieser Typ der Registrierung wurde von A. Hrabáková entwickelt.

Das zu analysierende Gemisch wird in einer Mikrobürette über Quecksilber gemessen und dann bei normaler Temperatur vor dem Eintritt in die chromatographische Säule in den Weg des Trägergases gedrückt. Der chromatographische Effekt erfolgt an der Adsorbenssäule, wodurch die einzelnen Gaskomponenten den Adsorptionsenergien proportional verteilt werden. Durch geeignete Wahl der Kolonnendimension kann vollständige Fraktionierung erzielt werden. Das Auftreten einer die Kolonne verlassende Gasfraktion läßt sich in dem mit konz. Kalilauge gefüllten Azotometer erkennen. Wenn nämlich nur Kohlendioxyd durch die Apparatur fließt, kommt es zu dessen vollständiger Adsorption. In dem Azotometer zeigt sich nur eine Mikroblasenfolge, die den sogenannten Nullgang der Apparatur verstellt. Beim chromatographischen Verfahren abgetrennte Gaskomponenten, die die Kolonne verlassen, äußern sich durch Anwachsen und späteres Verschwinden der Blasen im Azotometer. Diese Blasen steigen auf und sammeln sich im Auftriebsglöckchen, das dadurch gehoben wird, wodurch der am Waagebalkengerät angebrachte Spiegel bewegt wird. Der durch den Spalt tretende Lichtstrahl wird vom Spiegel reflektiert, dessen Bewegung mittels einer rotierenden Trommel auf photographischem Papier registriert wird. Das erhaltene Diagramm gibt den Volumenzuwachs im Azotometer in Abhängigkeit von dem Volumen des Trägergases wider. Der Nullgang ist durch eine beinahe mit der Zeitachse parallel verlaufende Linie gekennzeichnet; einzelne Fraktionen entsprechen den Stufen der Kurve. Die Höhe dieser Stufen im Diagramm geben direkt die Menge der verschiedenen Gaskomponenten an; der Abstand der Halbstenordinaten vom Zeitpunkt des Beginns der Elution zeigt die Qualität der Gaskomponente an.

Bei dieser Analyse wird das tatsächliche Volumen einzelner Komponenten des ursprünglichen Gemisches gemessen. Je nach den Umständen können auch andere Trägergase, aber auch andere Indikationssysteme benutzt werden. Die Anwendung von Kohlendioxyd als Trägergas ist für die Analyse gasförmiger Kohlenwasserstoffe und anderer Gase, die sich nicht in Kalilauge lösen, besonders vorteilhaft. Eine Analyse dauert 5 bis 30 Minuten und erfordert Gasmengen von 0,1 bis 2 ml je Anteil.

Chromatographische Gasspektren.

Unsere Wahl der Elutionschromatographie beruhte auf der Analyse der Bedingungen an der chromatographischen Säule²⁰. Die Bewegung der Gasfraktion in der Säule wird durch das Trägergas bewirkt; sie ist umso schneller, je höher die Konzentration der betreffenden Gaskomponente im Trägergase ist, das heißt, je schwächer die Adsorptionskräfte der aktiven Oberfläche sind. Die Geschwindigkeit der Beförderung ist durch die Adsorptionsenergie des adsorbierten Gases unter den gegebenen Bedingungen und durch den Massenimpuls der Moleküle des Spülgases bestimmt. In mathematischer Formulierung ergibt sich folgende Beziehung:

$$\Delta \lambda = RT \cdot \ln \frac{V_2}{V_1} = RT \cdot \ln \frac{U_2}{U_1} = RT \cdot \ln \frac{Rf_1}{Rf_2},$$

worin $\Delta \lambda$ den Unterschied der Adsorptionsenergien der Gase 1 und 2 über dem gegebenen Adsorptionsmittel, R die Gaskonstante, T die absolute Temperatur, V_1 und V_2 , allgemein V_{max} die Trägergasvolumina angeben, bei denen das beförderte Gas hinter der chromatographischen Kolonne in der Maximalkonzentration erscheint; U_1 und U_2 sind die Volumina des für die Elution der betreffenden Gase aus der Volum- oder Gewichtseinheit des Adsorptionsmittels benötigten Trägergases und Rf ist das Verhältnis der von dem transportierten Gasen zurückgelegten Strecke gegen die Front des Trägergases.

Der Wert V_{max} wird von uns *das charakteristische Elutionsvolumen*, der Wert U *das Adsorptionsvermögen des Adsorbenten* genannt. Der Wert V_{max} , der in gewissen Grenzen von der Strömungsgeschwindigkeit des Trägergases und von der Form der chromatographischen Kolonne unter Voraussetzung der Gleichgewichtssorption unabhängig ist, charakterisiert die Arbeitseigenschaften der Kolonne; der Wert U (die „Adsorptionswirksamkeit“) ist für das gegebene Gas bei Verwendung eines ganz bestimmten Sorptionsmittels bei bestimmter Temperatur und bestimmtem Druck charakteristisch. Dieses Verhältnis gilt allgemein für Gas und flüchtige Stoffe im Bereich der idealen Adsorptionsisotherme. Dies ist von grundlegender Bedeutung, da der Wert U die quantitative Definition der gegenseitigen Lage der Gase bei der chromatographischen Trennung ermöglicht und den Begriff *des chromatographischen Gasspektrums* festlegt.

Aus den Angaben V_{max} und U kann die Trennungsmöglichkeit der Gase entnommen und die optimale Füllung der chromatographischen Kolonnen theoretisch berechnet werden.

Die Größe U gibt in der Elutionschromatographie die Qualität der Gaskomponente an (in der Praxis entspricht sie dem in der Polarographie bekannten Halbwellenpotential). Ihre Bedeutung ist in Abb. 2 anschaulich dargestellt. Bei der Verbrennungschromatographie folgt jeder Komponente des Gasgemisches eine stärker adsorbierte Komponente nach, ohne Rücksicht auf deren sonstige Eigenschaften (Abb. 2a, b). Bei der Elutionschromatographie dagegen bleibt das Chromatogramm in Abwesenheit einer Komponente blind (Abb. 2c, d). Die nächste Komponente wird erst dann frei, wenn das charakteristische Elutionsvolumen erreicht ist.

In Abb. 3 und 4 sind chromatographische Gasspektren einiger Gase an Silikagel und Aktivkohle dargestellt. Auf der Koordinate ist der Logarithmus des U -Wertes, auf der Abszisse die absolute Temperatur T aufgetragen. Die Punkte an der Koordinate geben die Lage einzelner Gase im chromatographischen Spektrum an. Punkte im Diagramm bezeichnen experimentell gefundene Werte. Auf den ersten Blick ist ersichtlich, daß das Verhältnis $\log U/T$ in breitem Temperaturbereich linear ist. Daher ist es möglich, mit Hilfe der U -Werte die Lage der Gaszonen an der Adsorp-

tionssäule zu einem beliebigen Zeitpunkt nach Beginn der Elution und bei beliebiger Temperatur des Adsorptionsmittels mathematisch zu definieren. Ebenso kann die Verschiebung der Gaszone bei stufenweise geänderter Temperatur berechnet werden, so daß auf diese Weise die qualitative Zusammensetzung des Gasgemisches je nach Lage der Komponenten im Chromatogramm bestimmt werden kann.

Beziehungen der Struktur der Gase zu deren Lage im chromatographischen Gasspektrum.

Es wurde mehrmals^{13, 14} berichtet, daß der Logarithmus des R_f -Wertes im linearen Verhältnis zu der Kohlenstoffzahl im Molekül steht. Die Beobachtungen wurden hauptsächlich an höheren Gliedern der homologen Reihe der Paraffine und deren Derivaten gemacht. Bei den von uns durchgeführten Versuchen konnten wir bestätigen, daß auch der Logarithmus des U -Wertes im linearen Verhältnis zu der Kohlenstoffzahl im Molekül steht. Wie Abb. 5 zeigt, konnten wir bei unseren Arbeiten beweisen, daß dies bei den gasförmigen, an Aktivkohle oder Silikagel adsorbierten Paraffinen und Olefinen zutrifft.

Wir fanden, daß das Adsorptionsvermögen mit dem Siedepunkt der Gase ansteigt. Es ist daher möglich, einzelne Glieder homologer Reihen zu trennen ohne Rücksicht darauf; ob es sich um gesättigte, ungesättigte oder cyclische Kohlenwasserstoffe und deren Derivate oder um Glieder einzelner Gruppen chemisch oder physikalisch ähnlicher Gase wie die Edelgase, die Halogene, die Halogenwasserstoffe u. a., handelt.

Etwas anders verhalten sich gesättigte und ungesättigte Kohlenwasserstoffe mit gleicher Anzahl der Kohlenstoffatome im Molekül. Sehr interessante Erfahrungen erhielten wir beim Vergleich der Adsorptionscharakteristiken gasförmiger Paraffine, Cykloparaffine, Olefine und Acetylene an verschiedenen Adsorbenten. Ihre Lage im chromatographischen Gasspektrum entspricht nicht der Ordnung ihrer Siedepunkte. Die Ordnung der C_2 -Kohlenwasserstoffe im auf Aktivkohle (Abb. 6a) entwickelten Chromatogramm ist folgende: Acetylen, Äthylen und Äthan; die Ordnung der Siedepunkte aber: Äthylen, Äthan und Acetylen. Die Ordnung im Spektrum entspricht dem steigenden Molekulargewicht. Bei der Chromatographie an Aktivkohle spielen Größe und Struktur des Moleküls eine wichtige Rolle. Dies kann durch viele Beispiele bewiesen werden. Die U -Werte für Kohlenoxyd und Stickstoffoxyd liegen sehr nahe, die Siedepunkte beider Gase unterscheiden sich um fast 40° Celsius. Im Gegensatz dazu ist der U -Wert für Krypton im Vergleich zu Stickstoffoxyd unverhältnismäßig höher, obwohl bei Krypton der Siedepunkt um 1° unter dem Siedepunkt des Stickstoffoxyds liegt. Ähnlich liegt das Xenon im chromatographischen Spektrum weit hinter dem Methan, obwohl beide Gase fast den gleichen Siedepunkt haben. Äthan und Stickstoffoxydul mit gleichem Siedepunkt unterscheiden sich ebenfalls durch ihre Lage im Spektrum auf Kohle.

Bei der Sorption an einem polaren Sorbens (Abb. 6b) spielt die Polarisationsfähigkeit der Gase, die durch zweifache oder dreifache Bindung oder durch Asymmetrie des Moleküls gegeben ist, die Hauptrolle. Die Ordnung der erwähnten C_2 -Kohlenwasserstoffe ist im Spektrum an Silikagel im Gegensatz zu dem an Aktivkohle ganz unterschiedlich. Bei der chromatographischen Analyse des Gemisches verläßt Äthan die Adsorbenssäule zuerst, danach Äthylen und zuletzt Acetylen, wieder ohne Übereinstimmung mit der Ordnung der Siedepunkte. Ganz analog entspricht die Ordnung der C_3 -Kohlenwasserstoffe im chromatographischen Spektrum an Silikagel bloß der wachsenden Energie der C-C-Bindung: Propan, Propylen und Methylacetylen. Auch der dreigliedrige Kohlestoffring im Cyklopropanmolekül weist eine innere Spannung auf. Damit übereinstimmend liegt das Cyklopropan im Spektrum an Silikagel hinter Propan, jedoch vor dem entsprechenden Olefin, und zwar wieder ohne Rücksicht auf den Siedepunkt.

Auch strukturähnliche Gase, wie Vinylchlorid und Trifluorchloräthylen, unterscheiden sich bei der Adsorption. Die Differenz ihrer U -Werte reproduziert treu die innermolekulare Energieveränderung, die mit dem Eintritt der Fluoratome in das Molekül vor sich geht.

Zusammenfassung.

Es wird eine Übersicht über die Literatur der Entwicklung der Gaschromatographie bis zum Jahre 1955 und gleichzeitig ein Überblick über die theoretischen, praktischen und methodischen Ergebnisse auf diesem Gebiet in der Tschechoslowakei gegeben.

Ein Gas-Chromatograph wird beschrieben, der die qualitative und quantitative Mikroanalyse der Gase mittels direkter Messung des Volumens einzelner Komponenten des Gasgemisches ermöglicht; dieser ist mit automatischer Registrierung versehen. Ferner werden die Bedingungen der Trennung an der Adsorptionssäule mathematisch formuliert und durch Beispiele belegt. Der Begriff des chromatographischen Gasspektrums wird formuliert und charakteristische Größen definiert; dies ermöglicht die Bestimmung der Reihenfolge einzelner Gase bei der Entwicklung des Chromatogramms, die Vorhersage der Möglichkeit der Trennung, die Berechnung der Kolonnen für die Trennung der Gasgemische, wie auch die Identifizierung unbekannter Komponenten. Ferner werden neuentdeckte Beziehungen zwischen der Molekularstruktur der Gase und deren Lage im chromatographischen Spektrum diskutiert.

In dem systematischen Teile werden der Arbeitsgang und die Genauigkeit der Analyse angegeben. Die Methodik bietet neue Möglichkeiten für die Trennung und Analyse (0,1 bis 2 ml) chemisch und physikalisch sehr ähnlicher Gase, da es auf diese Weise erstmalig gelang, eine ganze Reihe von Gasen zu trennen. Neue analytische Methoden werden diskutiert, die sich mit der Trennung und Analyse der Permanentgase, gasförmiger Paraffine, Cycloparaffine, Olefine, Acetylene, Edelgase, chlorierter, bromierter und fluorierter Kohlenwasserstoffe (Freone), Stickstoffoxyde, Schwefelverbindungen und Halogene befassen. Ferner wird die Ausnutzung der Adsorption zur Konzentrierung und Analyse von Spuren gezeigt, wie z. B. einzelner höherer gasförmiger Paraffine (10^{-2} Vol.-%), Olefine (10^{-4} Vol.-%), des Heliums und Neons (10^{-4} Vol.-%), des Wasserstoffs (10^{-3} Vol.-%) u. a. Außerdem wird die Anwendung der Gaschromatographie zur Messung der Sorptions-Aktivität oberflächlich aktiver Stoffe (z. B. Katalysatoren) erwähnt.

Literatur.

- ¹ B. V. Ajvazov und D. A. Vjachirev, *Zur. prikl. chim.* **26**, 505 (1953).
- ² B. W. Bradford, D. Harvey und D. E. Chalkley, *J. Inst. Petrol.* **41**, 80 (1955).
- ³ S. Claesson, *Ark. Kemi (Mineral. Geol.) A* **23**, 501 (1946).
- ⁴ E. Cremer und R. Müller, *Z. Elektrochem.* **55**, 217 (1951); *Mikrochem.* **36/37**, 533 (1951).
- ⁵ E. Cremer und F. Prior, *Z. Elektrochem.* **55**, 66 (1951).
- ⁶ J. Griffiths, D. H. James und C. S. G. Phillips, *Analyst* **77**, 897 (1952).
- ⁷ E. Glueckauf, K. H. Barker und G. P. Kitt, *Discuss. Faraday Soc.* **7**, 199 (1949).
- ⁸ C. G. B. Hammar, *Svensk Kem. Tidskr.* **63**, 125 (1951).
- ⁹ C. J. Hardy, *Analyt. Chemistry* **27**, 470 (1955); *Mikrochim. Acta [Wien]* **1955**, 208.
- ¹⁰ G. Hesse, H. Werther und W. Schnorrenberg, *Z. Elektrochem.* **55**, 60 (1951).
- ¹¹ A. N. Charin, P. N. Protasov und L. M. Bojko, *Dokl. Akad. Nauk SSSR* **90**, 611 (1953).
- ¹² A. T. James, *Biochemic. J.* **52**, 242 (1952).
- ¹³ A. T. James und A. J. P. Martin, *Analyst* **77**, 915 (1952).
- ¹⁴ A. T. James, A. J. P. Martin, G. H. Smith und G. Howard, *Biochemic. J.* **52**, 238 (1952).
- ¹⁵ A. T. James und A. J. P. Martin, *Biochemic. J.* **52**, 679 (1952).
- ¹⁶ D. H. James und C. S. G. Phillips, *J. Chem. Soc. London* **1953**, 1600; **1954**, 1066, 3446.
- ¹⁷ J. Janák, *Čs. Patent No.* 83991/20. IX. 1952.
- ¹⁸ J. Janák, *Sborník I. celostát. konference anal. chemiku, Praha 1952; Nakl. ČSAV*, 1953. S. 200.
- ¹⁹ J. Janák, *Coll. trav. chim. Tchécoslovaquie* **18**, 798 (1953); *Chem. Listy* **47**, 464 (1953).
- ²⁰ J. Janák, *Coll. trav. chim. Tchécoslovaquie* **19**, 684, 700, 917 (1954).
- ²¹ J. Janák, *Chem. Listy* **47**, 817, 828, 837, 1184, 1348 (1953).
- ²² J. Janák und K. Tesářík, *Chem. Listy* **48**, 1051 (1954); *Coll. trav. chim. Tchécoslovaquie* **20**, 245 (1955).
- ²³ J. Janák und I. Páralová, *Coll. trav. chim. Tchécoslovaquie* **20**, 336 (1955); *Chem. Listy* **47**, 1476 (1953).
- ²⁴ J. Janák und M. Rusek, *Chem. Listy* **47**, 1190 (1953); **48**, 207, 397

- (1954); 49, 191 (1955); Coll. trav. chim. Tchécoslovaquie 20, 520 (1955).
- ²⁵ D. H. Lichtenfels, S. A. Fleck und F. H. Burow, Analyt. Chemistry 27, 328 (1955).
- ²⁶ A. J. P. Martin und R. L. M. Synge, Biochemic. J. 35, 1958 (1941).
- ²⁷ R. H. Munch, Analyt. Chemistry 27, 271 (1955).
- ²⁸ H. W. Patton, J. S. Lewis und W. I. Kay, Analyt. Chemistry 27, 170 (1955).
- ²⁹ C. S. G. Phillips, Discuss. Faraday Soc. 7, 241 (1949).
- ³⁰ N. H. Ray, J. Appl. Chem. 4, 21, 82 (1954).
- ³¹ F. Roth, W. Ohme und A. Nickisch, Öl, Kohle, Erdöl, Teer 38, 1133 (1942).
- ³² G. Schay und Gy. Székely, Acta Chim. Acad. Sci. Hung. 5, 167 (1954).
- ³³ P. Schuftan, in Engler und Höfer, Das Erdöl, 4. Bd., Leipzig: 1930. S. 448.
- ³⁴ W. C. Turner, Natl. Petroleum News 35, 234 (1943); Oil Gas J. 41, 48 (1943); Petrol. Refiner 22, 140 (1943).
- ³⁵ N. M. Turkeltaub, J. analyt. Chem. (russ.) 5, 200 (1950).
- ³⁶ N. M. Turkeltaub, V. P. Svarcan, T. V. Georgievskaja, O. V. Solotareva und A. I. Karymova, J. Physik. Chem. (russ.) 27, 1827 (1953).
- ³⁷ N. M. Turkeltaub, Neft. Choz. 32, 72 (1954).
- ³⁸ E. V. Vagin und A. A. Zuchovickij, Dokl. Akad. Nauk SSSR 94, 273 (1954).
- ³⁹ D. A. Vjachirev, A. I. Bruk und S. A. Guglina, Dokl. Akad. Nauk SSSR 90, 577 (1953).
- ⁴⁰ E. Wicke, Angew. Chem. 19, 14 (1947).
- ⁴¹ H. Wirth, Mh. Chem. 84, 156, 741 (1953).
- ⁴² H. Wirth, Mikrochem. 40, 15 (1952).
- ⁴³ A. A. Zuchovickij, O. V. Solotareva, V. A. Sokolov und N. M. Turkeltaub, Dokl. Akad. Nauk SSSR 77, 435 (1951).
- ⁴⁴ A. A. Zuchovickij, N. M. Turkeltaub und V. A. Sokolov, Dokl. Akad. Nauk SSSR 88, 859 (1953).
- ⁴⁵ A. A. Zuchovickij, N. M. Turkeltaub und T. V. Georgievskaja, Dokl. Akad. Nauk SSSR 92, 987 (1953).
- ⁴⁶ A. A. Zuchovickij und N. M. Turkeltaub, Dokl. Akad. Nauk SSSR 94, 77 (1954).
- ⁴⁷ A. A. Zuchovickij, N. M. Turkeltaub, E. V. Vagin und V. P. Svarcan, Dokl. Akad. Nauk SSSR 96, 303 (1954).

Mikrochimica Acta (Lagung).
O/75.

Zeilenanzahl: 364.

Institute of Microbiology and Hygiene, University of Montreal, Canada.

An Automatic Device for Quantitative Estimate of Paper Electrophoresis and Radioelectrophoresis.

By

J. Sternberg.

With 7 Figures.

(Received May 24, 1955.)

The obvious advantages of paper electrophoresis in clinical laboratory techniques largely justify the wide approval this method has won. To date, paper electrophoresis techniques are adapted for routine determination of proteins, lipids, polysaccharids, enzymes, hormones, etc. It was only natural that the isotope technique should be combined with paper electrophoresis, as has been the case with paper chromatography. *Durrum*, one of the first workers in this field, mentions this possibility in 1950, in connection with the detection of thyroid hormones¹. Later, in 1952, *Gross* and associates² localise the two circulating hormones, thyroxine and triiodotyronin, with the aid of the same procedure; in clinical work, *Deiss* and associates³ determine the value of protein bound iodine by cutting the electrophoretic paper into 5 mm wide strips, and by assaying the radioactivity of the eluted compounds. Recently, *Kallee*⁴ uses the same technique in localising the ¹³¹I-labelled insulin in serum and tissues. Most of the papers use radioautography as a means of identification of the radioactive compound; but even though this method is the most accurate for radioactivity assay, the long delay in obtaining the answer is an obstacle in its application as a routine work, where a rapid answer is essential.

The direct quantitative estimate of paper electrophoresis by transmitted or reflected light has been thoroughly studied and several systems are now commercially available^{5, 6}. Some of the devices are automatic

* Scanning device by Lange, Hamburg.

or only partly automatic, the paper being manually scanned.

On the other hand, there are devices constructed for continuous scanning of radioactive paper chromatography or electrophoresis^{7, 8}. It

** Actigraph, constructed by Nuclear, Chicago, USA.

must however be noted that neither of the systems permits a simultaneous determination of optical density as well as that of the radioactivity, and a double equipment is expensive.

At the Radioisotope Laboratory of the Institute of Microbiology and Hygiene of the University of Montreal, we are using since 1953 a device which enables the simultaneous assay of radioactivity as well as the photometric determination of paper electrophoresis in approximately 2 hours. The apparatus is an adaptation of the standard equipment found in any radioisotope laboratory, its central instrument being the recording milliammeter used for the graphic recording of any ratemeter. The above recording milliammeter has been attached to a synchronized device used alternately for photometric determination or for radioactivity assay.

Principle and Description.

1. Recording milliammeter.

As previously mentioned, the ammeter is of a standard type (Esterline Angus) with a maximum deflection for 1 mA and an inertia of 0.4 seconds

between two deflections. The maximum of deflection covers a distance of 11.3 cm (4.5) thus, as little as 20 microamperes change in the intensity of the detected current will be easily recorded, the correspondent graphic deflection being approximately 2.5 mm. The recording instrument is of the swinging type, this being a slight disadvantage for a direct estimate of the curves, the shape of the recorded curves being at first sight somewhat distorted (Fig. 3). However, this difficulty has been overcome, as it will be seen later; it must also be noted that there are other ammeters with a direct linear transcription instead of the curved one.

2. Scanning device.

The basic part of this device is a copper plate, 35 cm long, 5 cm wide and 0.5 cm thick (Fig. 1). A 2.5 cm wide slit is cut throughout the length of the plate; a rack is cut on the inferior side, of the same pitch as a pinion linked to the recording ammeter. The pitch of the pinion is critical with respect to the speed of the recording ammeter, synchronizing the movement of the plate to that of the latter, usually 7.5 cm per minute or per hour. The fast movement is used for the photoelectric scanning, the slow movement being used for radioactivity assay.

Below the longitudinal slit, a fluorescent light or a 6 V, 6 A battery light bulb gives the light source necessary for the photometric determination. A photocell (type 931-A RCA, amplification factor 1×10^6 , maximum response at 4000 Å) is housed in a copper cylinder coated matte black on the interior surface, and with a lateral window matching the side window of the photocell (25 mm/5 mm). The width and the length of the aperture are regulated by a system of movable plates. A number of ordinary colored photographic filters will give the desired wavelength, when interposed between the light source and the moving plate. The photocell is connected to a high voltage supply, giving 700 to 1000 volts and 100 to 200 mA; a variable resistor regulates the voltage, the stability of the zero point of the photocell being secured by a second 25,000 ohms (5 watts) resistor placed between the output of the high tension and the photocell, or by a bridge circuit.

The intensity of the output current of the photocell is largely sufficient to be recorded directly, without any additional amplification. In white light, the maximum voltage required to give a full deflection of the recording ammeter (1 mA current) is 550 to 600 volts, with a 4 watts fluorescent light as a light source placed at 5 cm below the filter paper. The voltage must be increased when scanning in monochromatic light, for instance 900 volts when a red filter is used.

A Geiger tube (Nuclear D-34) is also placed upon the center of the plate; the tube is shielded by a small lead shield and connected to the ratemeter (Nuclear type 1615 B) or a computer, when more accurate counting is required (Berkeley 1600 or Tracerlab SC-18). The recording device set for radioactivity assay is shown in Fig. 2.

Technique of photometric determination.

1. Determination of the direct transmission graph.

The paper electrophoresis, usually run with 0.02 ml serum for 14 hours, is dried and stained as usual with an amidoblack solution in an acetic acid-ethyl alcohol mixture, for 15 minutes. It has often been published that amidoblack is more suitable for direct photometry than bromophenol blue, a fact which we ourselves have verified many times. Care must be taken to remove the excess of dyestuff fixed on paper, which can be done easily by washing the papers with a mixture of methyl alcohol 20%, acetic acid 8 to 10%, and water at 85° to 90° C for 10 minutes, at least 3 to 4 times. However, a faint bluish background remains on the paper, especially between the starting point and the first separated fraction (γ globulin); this is probably due to a certain irreversible absorption of protein in the filter paper, and also by a passive "trailing" of the neutral lipids, which can modify the transmission of the light. Therefore, in order to avoid a discrepancy between the zero points at the start and at the end, it is advisable to start the scanning before the albuminic

fraction; otherwise, the values of the γ globulins are always higher than their real values.

The papers are dried carefully, then rendered transparent with paraffin oil or any other similar product (anisole, bromonaphthalin, synthetic immersion oil, etc.). The transparent paper is put between two glass plates over the copper plate, so that the slit must cover the major part of the stained spots; the excess of oil must be removed, otherwise the transmission will be too high, due to an excess of reflected light through the oil droplets. The zero point is set and the recording ammeter is started; the geared plate moves synchronously with the recording ammeter and the curve of intensity proportional to the transmittance is recorded in 1 to 2 minutes, according to the length of the developed electrophoretic spectrum. The direct transcribed graph appears as shown in Fig. 3.

2. Conversion of the direct graph.

It can be seen that the transmission graph differs from the well known electrophoretic pattern in two points: a) it is curved, due to the swinging type of recording, and b) it represents the *transmission* of light, which is the logarithm of the optical density, this latter being directly proportional to the amount of stained proteins. Therefore, in order to have an interpretable graph it will be necessary to reconvert the curve into rectangular coordinates and antilogarithmic values. This can be done by three procedures, as follows:

I — mathematical procedure.

The graph is divided into equal points, at approximately 2.5 mm distance; care must be taken that the inflexion points of the curves (minimum and maximum) should enter the scanned points. The antilogarithmic values are taken and the curve is reconstructed on a normal squared paper (10 divisions per inch or per 25 mm). Thus the curve is automatically redressed and its appearance is similar to a normal *Tiselius* curve (Fig. 3).

This procedure, if the most accurate, has the disadvantage of being very time consuming and it has been reserved only for reference experiments.

II — electronic procedure.

It would be more convenient to have an electronic device which would follow the direct transmission current from the output of the photocell and extract the logarithms before they are recorded by the ammeter; thus the graphic instrument would record the antilogarithmic values directly, and only a rectangular conversion would be necessary. *Snowden* and *Page*⁸ published a paper describing an electronic circuit capable to extract antilogarithmic values; the schema of the circuit is presented in Fig. 4.

We have tried the above circuit, but unfortunately two major drawbacks prevented from its use in the scanning device: the output current is too low, therefore a further amplification stage is required, and 2) the resulting values are linear only for intensities higher than 0.2 to 0.3 milliamperes; below that level, a certain distortion is noted. As the γ , β , α_2 , and α_1 globulins are scanned usually in this range of intensities, the circuit in its present state is not completely reliable; however, we are in process of studying the above possibility and further results will be presented later.

It must be remembered that, even if an electronic device will reconvert the logarithmic values, the direct traced graph will be curved, and a further transcription into rectangular coordinates will be necessary.

III — mechanical procedure.

The easiest approach to the double problem of rapid reversion into rectangular and antilogarithmic coordinates seems to be the mechanical one. We have tried several devices, the most convenient being that presented in the Fig. 5:

The apparatus consists of a mechanical coordinate system of metallic rods (XY and DE); the logarithmic values at A are converted into antilogarithmic values at B . All that must be done is to follow the transmission graph with the pen A and the antilogarithmic values of the above graph are simultaneously recorded at the pen B . The focal point of the conversion is at C ; at this point, the two coordinate rods XY and DE are crossing and are linked to the curved rod LM . This is a rod which is bent in a shape of a logarithmic curve corresponding approximately to the equation $y: 1/\log x$. It should be noted that the system of coordinates from which the above curve was constructed is identical to that of the graph paper of the recording ammeter, i. e. the ordinate is curved instead of being rectilinear. Thus the converted values give directly the rectilinear values as well as the antilogarithmic ones.

The three rods, XY , DE and LM are linked by a collet consisting of three tubes which ride on the rods. The friction encountered may be minimized by the use of a ball bearing system, but this is the most serious disadvantage of the device. Two drums hold the two graph papers, the transmission graphs and the reconverted graph; they are moving synchronously and are linked to the shaft of the recording milliammeter. Two gears set on a perpendicular axis secures this synchronisation and the graph is reconverted with the same speed as that of the initial recording. The logarithmic pen is provided with a spring, in order to permit to follow the retrograd variations of the curve due to the initial curved recording.

The antilogarithmic pen transcribes directly the redressed curve, as seen in the figure.

The resulting surfaces are then planimeted and calculated with the usual planimeters (Ott, Keuffel & Esser, etc.).

Another variation of the system might be a direct transcription done directly by the recording ammeter. This can be done with the aid of a cam fixed in the swinging of the recording system. The profile of the cam must be calculated so that the transcribing system will give directly the antilogarithmic values. However, the procedure has many mechanical difficulties, the most important being the small strength of the swinging system as well as the errors to the inertia of this system.

Technique of Radiophorogram determination.

The adaptation of the scanning device for radioactivity assay is rapidly done by placing a Geiger counter on the position indicated in Fig. 1. The Geiger tube is maintained in place by a lead shield, 2 cm thick. In Fig. 2, showing the complete set-up, the shield contains a preamplifying system, connected through a cathode follower to the ratemeter 1615 B and therefrom to the recording milliammeter.

Several remarks must be made regarding the direct measurement of radioactivity: 1) The minimum amount of activity scanned by this method is far higher than that obtained by direct count on radioactive solutions extracted from paper strips, as in the paper of *Deiss* and associates. Moreover, it is liable to important causes of error, when using soft beta emitters; the best results are obtained with gamma emitters (^{131}I , Fig. 6) or hard beta isotopes, such as ^{32}P (Fig. 7). Care must be taken to put always the paper with the face more intensely stained; otherwise the self absorption will be important even with hard beta emitters sometimes exceeding 40%. A good precaution consists in taking the same amount of serum—0.02 ml—, to absorb it on another filter paper, then to measure the activity of both faces of the paper in a regular counting system; thus, the error due to self absorption can be calculated.

2) As the amount of serum necessary for a good separation and photometric determination of proteins does not exceed 0.02 ml, another limiting factor arises here, namely the minimum of activity contained in a ml serum which will give measurable results. The lowest range of the ratemeter is 500 counts/minute for a full deflection, translated by a deflection in the recording ammeter of 11.5 cm. Then the minimum of activity capable to be recorded by the system will be 40 counts/minute for 10 mm deflection (approximately the background of the shielded Geiger counter). This

amount of activity corresponds to a total activity per ml serum of

$$40 \cdot 50 = 2,000 \text{ counts/minute}$$

providing that all the radioactivity is concentrated in a single spot scanned by the Geiger tube. This is not the case for thyroxine and triiodothyronine determination, and a factor not lower than 5 to 6 must be applied in this case. One sees that the required minimum radioactivity is high enough, 10,000 to 12,000 counts in the case of iodine compounds; but one must consider that the ratemeter is a device with a low sensitivity. If the ratemeter is replaced with a scaler provided with a decimal counting unit and a computer, and the Geiger tube is replaced by a scintillation counter, the accuracy of the device can be greatly improved. With our new device, using a SC-18 Tracerlab scaler and a scintillation counter, the sensitivity seems to be improved by a factor near 50 times the former value.

3) The recorded surface will be directly proportional to the real activity, therefore no reconversion procedure is necessary. However, the device must be calibrated for each isotope, by using a reference curve, obtained as follows: Increasingly amounts of isotope are deposited upon filter paper used for electrophoresis, which have been previously moistened with buffer and dried. Lately, we used non radioactive papers with an already developed electrophoretic spectrum, and we applied the radioactive solutions on the proteic spots, taking care not to exceed the proteic zones with the radioactive solutions. The radioactive spots are scanned and the resulting surfaces are integrated. The curve is constructed by plotting the total area of the radioactive spot as ordinate against the activity on the absciss. Naturally, the resulting areas must be carefully planimetered, with the same procedure as that for the photometric estimation.

4) It must also be remembered that the measurement of radioactivity is a statistical procedure, and a rapid scanning will give considerable errors; thus, the recording ammeter must be switched to the "hour feeding", and will scan with the speed of 7.5 cm per hour.

By respecting the above mentioned rules, it is possible to make accurate determinations, as is possible to see in the Fig. 6 and 7.

Fig. 6 shows a simple method to calculate the protein bound iodine simultaneously to the estimate of the respective fractions of thyroxine and triiodothyronine. Assuming that the thyroxine is migrating with or near the α_1 globulin (TIT), the activity of the above spot will be probably due to thyroxine, whereas the activity of the other globulinic spots will be probably due to TIT. A first assay prior to the electrophoretic migration will give the total serum activity; a second assay must be done simultaneously to a control consisting of a non radioactive serum run with an identical amount of mineral radioiodine, in order to determine the migration speed of mineral iodine. If the mineral iodine is well separated from the organically bound iodine,—which occurs almost constantly,—then the ratio of the proteic bound surface/total radioactive surface will be directly proportional to the ratio PBI/Total Iodine.

Fig. 7 shows the radiophorogram of a serum of lactating rabbit previously injected with mineral ^{32}P . The localization of the radioactive spot after the electrophoretic migration clearly shows that the mineral phosphorus injected did not migrate with any of the proteic fractions, but its electrophoretic migration was much greater than that of albumin. Another paper run simultaneously only with non radioactive serum and mineral radiophosphate has shown that the migration speed of the mineral radiophosphate was identical to that of the examined paper. The conclusion is obvious, the radioactive phosphorus being carried only as mineral salt and not connected to the lipoproteins migrating with the β or α_1 globulins, as one might have expected⁹.

Similar procedures might be used for the estimate of protein bound zinc, when using ^{65}Zn , a hard gamma emitter. The protein bound zinc seems to travel with the β globulins. Unfortunately, the danger of the diagnostic use of radiocalcium makes difficult to use the same procedure for the determination of protein bound calcium. Besides, ^{45}Ca is a soft

beta emitter, the self absorption being too considerable to permit a reliable result. Perhaps the replacement of ^{45}Ca with ^{90}Sr , as it has been done in some biological experiments, could give a better approach to the problem. At any rate, the experiment must be made in vitro, ^{90}Sr being also a bone seeker like calcium and inadequate for human use.

Another possibility must be mentioned, that of the calculation of the half life of radioiodinated labelled human serum albumin, currently used for plasma volume determinations. The radiophorogram combined with the electrophoretic determination could indicate easily the breakdown of the label from the albumin and its integration in the iodine metabolic circuit; a radioactive spot concentrated only in the albuminic region will indicate that the labelled albumin has not been broken down, while other secondary radioactive spots in the α_1 region will suggest an elaboration of radioactive thyroxine from the mineral iodine, released after the breakdown of albumin.

Summary.

A device is presented for a simultaneous photometric scanning of paper electrophoresis and determination of radioactivity of the proteic spots. The stained papers are scanned by a photomultiplier and the curve transmitted light is directly recorded, then reconverted into an optical density curve. A rapid radioactivity scanning permits the determination of the total activity as well as the localization of the radioactive fractions in respect to their linkage to the serum proteins.

Zusammenfassung.

Eine Vorrichtung zur gleichzeitigen photometrischen Auswertung von papierelektrophoretisch getrennten Eiweißlösungen und zur Bestimmung von deren Radioaktivität wurde beschrieben. Die auf dem Papier verteilten Flecken werden mit Hilfe eines Photomultipliers ausgewertet, die Kurve der Lichtdurchlässigkeit unmittelbar aufgezeichnet und sodann in eine Kurve der optischen Dichte umgewandelt. Eine rasche Auswertung der Radioaktivität ermöglicht sowohl die Bestimmung der Gesamtaktivität wie auch die Zuordnung der Aktivitätsanteile hinsichtlich ihrer Bindung an die verschiedenen Serumproteine.

References.

- ¹ E. L. Durrum, J. Amer. Chem. Soc. **72**, 2943 (1950).
- ² A. H. Gordon, J. Gross, D. O'Connor, and R. Pitt-Rivers, Nature **169**, 19 (1952).
- ³ F. Larson, W. P. Deiss, and E. C. Albright, Science **115**, 626 (1952).
- ⁴ E. Kallce and G. Seybold, Z. Naturforsch. **9**, 307 (1954).
- ⁵ A. L. Latner and C. C. Ungley, Brit. Med. J. **1953** **I**, 467, 498.
- ⁶ E. M. Crook, H. Harris, F. Gassan, and F. L. Warren, Biochem. J. **56**, 434 (1954).
- ⁷ C. H. Williams and R. E. Smith, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **77**, 169 (1951).
- ⁸ T. Snouden and H. W. Page, Rev. Sci. Instruments **21**, 179 (1950).
- ⁹ J. Sternberg, Rev. Canad. Biol. **13**, 309 (1954).

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/76.

Zeilenanzahl: 279.

Aus der Landwirtschaftlich-chemischen Bundesversuchsanstalt in Wien.

Über die Bestimmung der Spurenelemente in der Agrikulturchemie.

Von

H. Schüller.

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 27. Mai 1955.)

Die wachsende Bedeutung der Spurenelemente für die Landwirtschaft hat die Entwicklung geeigneter Methoden zu ihrer analytischen Erfassung notwendig gemacht. Die Spektralanalyse zeigt sich den üblichen chemischen Methoden hier weit überlegen, sei es, daß man auf dem Gebiet der Emission oder dem der Absorption arbeitet.

Die Gehalte, in denen die Spurenelemente in der Natur in Boden-, Düng- und Futtermitteln sowie Pflanzenaschen auftreten, reichen in Böden von 0,1% bei Mangan bis zu $10^{-8}\%$ bei Molybdän. Als Einheit hat sich unter dem Einfluß der angelsächsischen Literatur das p. p. m., das ist ein Teil auf eine Million Teile, eingebürgert, wenn man auf 100 g bezieht, also 0,0001%. Dementsprechend ist der Bereich von 1000 p. p. m. bis 0,01 p. p. m. Gegenstand der Untersuchungen. Es ist ohne weiteres verständlich, daß so kleine Gehalte nicht direkt in den zu untersuchenden Proben festgestellt werden können, da die Hauptmengen, meist Kalksalze und Silikate, bei der Bestimmung stören würden.

Die Spurenanalyse hat sich daher in folgende drei Hauptteile zu teilen:

1. Extraktion oder Lösung der zu untersuchenden Probe;
2. Anreicherung der Spurenelemente, falls deren Anteil zu klein ist;
3. Bestimmung der Spurenelemente.

1. Bei Futtermitteln etwa wird die gesamte Menge der vorhandenen Spurenelemente interessieren. Meist handelt es sich bei Futtermitteln um Gemische von Kalksalzen mit Protein und fetthaltigen Substanzen, die noch Zusätze von Phosphaten aufweisen. Hier führt die Veraschung und nachfolgende Lösung etwa in Salzsäure zum Ziel. Die so erhaltene Lösung ist Ausgangsprodukt der Anreicherung. Mitunter ist es möglich, Kupfer und Mangan in solchen Aschenlösungen direkt zu bestimmen. Man bedient sich dazu bekannter Farbreaktionen: bei Cu der Färbung mit Dithizon, bei Mn der Permanganatreaktion. Die anderen Elemente, wie Co, Ni, Zn, müssen angereichert bzw. von den Hauptmengen getrennt werden, was noch besprochen werden soll. Düngemittel sind teils aufgeschlossen, teils, wie Rohphosphat oder Thomasphosphat, schwerlösliche Körper. Hier wird man von einem vollkommenen Aufschluß Abstand nehmen, da ja die Pflanze nur die leichtlöslichen Anteile aufnehmen kann. Man stellt einen Extrakt her, etwa durch Lösung in Salzsäure und reichert in der Lösung die Spurenelemente an. Bei Böden stellt die Frage des geeigneten Extraktionsmittels das Hauptproblem dar, da ja die erste Forderung eines sinnvollen Extraktionsmittels die Erhaltung des Bodens in seiner Originalform ist. Hier entstehen auch die größten Schwierigkeiten der Anreicherung und Bestimmung, da notwendigerweise bei Verwendung sehr milder Extraktionsmittel nur wenig Spurenelemente in Lösung zu bringen sind, was sehr empfindliche Bestimmungsmethoden erforderlich macht.

2. Die Anreicherung der Spurenelemente aus den so erhaltenen Lösungen kann nach drei verschiedenen Methoden vorgenommen werden:

- a) Fällungsmethoden;
- b) Ausschüttelungsmethoden;
- c) elektrochemische Anreicherung.

a) Diese Art der Anreicherung ist in umfassender und analytisch exakter Weise von *Mitchell* am Macaulay Institute für Soil Science in Aberdeen, Schottland, beschrieben und zu einer vielgebrauchten Methode ausgebaut worden. *Mitchell* fällt die in Lösung gebrachten Spurenelemente mit Oxin bei bestimmtem pH, filtriert die erhaltenen Oxinate und spektrographiert im Lichtbogen die Aschen. Die Methode ist sehr empfindlich und gestattet Gehalte bis 0,01 p. p. m. exakt festzustellen.

b) *Pohl* schüttelt die Lösungen, die die Spurenelemente enthalten, mit einem Gemisch verschiedener komplexbildender Reagenzien (Na-Diäthylthiicarbat, Oxin und Dithizon) bei steigendem pH mit Chloroform aus, wobei die Schwermetalle Komplexe bilden, die in Chloroform löslich sind. Nach der Verjagung des Chloroforms verascht man, löscht die Asche in Salzsäure und spektrographiert im Funken.

c) Eine dritte Möglichkeit der Anreicherung besteht in der elektrochemischen Niederschlagung der Spurenelemente, die dadurch erleichtert wird, daß alle Spurenelemente edler sind als Eisen. Dieser Weg wurde wiederholt zur Lösung von Einzelproblemen beschrieben, für die Analyse der Spurenelemente in der Landwirtschaft hat diese Methode bisher keine Bedeutung erlangt.

3. Die eigentliche Bestimmung der Spurenelemente kann prinzipiell auf zweierlei Art durchgeführt werden. Falls es sich darum handelt, ein oder zwei Elemente, etwa Cu und Mn, zu bestimmen, ist es vorteilhaft, eine Absorptionsmethode heranzuziehen. Im Falle des Mn, das ja schon den Übergang zu den Hauptnährstoffen bildet, ist die bekannte und bewährte Methode der Oxydation zu Permanganat und seine kolorimetrische Bestimmung der bequemste und genaueste Weg. Gehalte von 10⁻⁵%, die Anreicherung mitgerechnet, können so bequem durchgeführt werden. Niedrigere Gehalte festzustellen, ist mit anderen Farbkomplexen möglich, doch muß hier zu großer Vorsicht gemahnt werden, da kaum ein organischer Farbbildner für ein Element charakteristisch ist und Fehlmessungen durch andere Spurenelemente zu befürchten sind. Diese Schwierigkeiten umgeht die Bestimmung mittels der spektralen Emission.

An der Landwirtschaftlich-chemischen Bundesversuchsanstalt in Wien wird zur Zeit an der Ausarbeitung solcher Methoden gearbeitet. Das Hauptgewicht liegt zwar auf dem Gebiet der Bodenforschung, doch schließt dies nicht aus, in modifizierter Form auch die Spurenelementforschung in Dünge- und Futtermitteln zu betreiben. Bei Böden wird nach Extraktion in einem geeigneten Lösungsmittel — wir verwenden für 100 g Boden 500 ml Ammoniumacetatlösung und leiten zur Konstanthaltung des pH Kohlensäure ein — die so erhaltene Spurenlösung nach der Ausschüttelungsmethode angereichert, die erhaltene Lösung der Metallkomplexe in Chloroform von diesem befreit, verascht und die Asche in 1 ml Salzsäure aufgenommen. Man hat so die in 100 g Boden enthaltenen Spurenelemente auf 1 ml Lösung konzentriert. Mit Ausnahme des Bor, das sich der chemischen Anreicherung auf die geschilderte Weise entzieht, können die Elemente Mn, Cu, Zn, Co, Ni, Mo, V, Cr, Pb, Sn und Ti sowie andere Elemente, wenn sie vom landwirtschaftlichen Standpunkt interessant erscheinen, bestimmt werden. Unter den in der Literatur beschriebenen Verfahren zur Spektrographie von Lösungen hat sich die Methode mit bewegter Elektrode, die in die zu untersuchende Lösung eintaucht, als einfache und billige Aufnahmetechnik erwiesen. Ein Rädchen aus spektralreiner Kohle, das von einem Kohlestab von 10 mm Ø durch Absägen mit einer Kreissäge auf der Drehbank leicht herstellbar ist, bildete den einen Pol der Funkenstrecke, während ein 1 cm langes Kohlestückchen, das in einem Halter aus rostfreiem Stahl steckt, die Gegenelektrode darstellt. An der Unterseite des Rädchens, das sich um eine horizontale Achse dreht, taucht dieses in die Untersuchungslösung ein. Zur Aufnahme wurde der große Quarzspektrograph

von Hilger verwendet. Als Anregung wurde ein Funkenerzeuger nach *Feussner* mit 12.500 pF, $L = 0,8$ mH benützt. Der Elektrodenabstand betrug 3 mm. Als Bezugselement wurde Eisen verwendet, das den Konzentrationen in gleicher Menge nach der Anreicherung zugesetzt wurde. Da die in den Bodenextrakten enthaltenen Eisenmengen relativ klein sind, ist ein Fehler aus dieser Quelle nicht zu befürchten. Zur Messung hoher Schwärzungen wurde vor den Spalt ein Platinstufenfilter von 100 und 10% Durchlässigkeit gebracht. Man stellt nun Testlösungen bekannten Gehaltes her und erhält so für die einzelnen Spurenelemente nach dem üblichen Verfahren Eichlinien, an deren Hand man die unbekannten Proben durch Schwärzungsvergleich bestimmt. Die folgende Abbildung zeigt die so erhaltenen Eichkurven für Mn, Cu, Zn, Co, Ni und V. Zur Prüfung des Anreicherungsverfahrens wurden Bodenextrakte, die bereits von den Spurenelementen befreit waren, mit bekannten Mengen dieser Elemente versetzt und die Anreicherung, wie beschrieben, durchgeführt. Die folgende Tabelle zeigt die Reproduzierbarkeit, bzw. die quantitative Erfassung der Spurenelemente durch das Ausschüttelungsverfahren.

Tabelle 1.

Zugesetzt p. p. m.	Wiedergefunden p. p. m.					
	Cu	Mn	Zn	V	Co	Ni
1000	920	1020	980	1030	990	1020
500	485	440	500	485	500	490
200	192	210	160	225	220	240
100	96	100	98	105	90	100
50	48	57	52	53	54	52
20	24	18	24	18	24	20
10	9,4	9,0	11	9,2	9,4	9,4
5	5,2	5,4	5,2	4,8	4,5	5,2
2	2,4	2,4		2,2		2,4
1	1,2			1,4		

Die Auswertung wurde nach dem leitproben-gebundenen Verfahren durchgeführt, da bei den verschiedenen Einflüssen der Aufnahmetechnik nach dem Rädchenverfahren noch zu wenig Erfahrungen vorliegen, inwieweit von Platte zu Platte die Anregungsbedingungen konstant gehalten werden können, was ja für die Anwendung des leitprobenfreien Verfahrens Voraussetzung ist. Um bei kleinen Gehalten verlässlich messen zu können, wurde eine Transformation der Schwärzungen vorgenommen, wobei sich bei den Wellenlängen bis 3300 Å die P-Transformation, bei den Linien über dieser Wellenlänge die W-Transformation besser bewährt hat. Ebenso wurde bei kleinen Schwärzungen eine Untergrundkorrektur vorgenommen.

Als Meßlinien wurden folgende Wellenlängen verwendet:

Mn ... 2933, 2939, 2949, Fe 2948,
 V ... 3102, 3185, 3228,
 Cu ... 3247, 3228,
 Zn ... 3345, 3407,
 Co ... 3405, 3453, 3407, 3444,
 Ni ... 3415, 3407.

Leider hat die so glatt verlaufende Aufstellung der Eichkurven, sowie die Prüfung des Anreicherungsverfahrens, nicht gehalten, was sie anfänglich versprochen hatten. Die Verteilung der einzelnen Spurenelemente in Bodenextrakten ist in ihren Gehalten recht verschieden.

Die in den mit Ammoniumacetat erhaltenen Bodenextrakten vorhandenen Spurenelemente bewegen sich in folgenden Größen:

	Extrakt p. p. m.	Konzentrat p. p. m.
Mn	10 — 100	1.000 — 10.000
Cu	0,5 — 5	50 — 500
Zn	1 — 10	100 — 1.000
Ni	0,1 — 1	10 — 100
Co	0,01 — 0,1	1 — 10
V	0,01 — 0,1	1 — 10

Der Faktor 100 zwischen Extrakt und Konzentrat erklärt sich aus dem Umstand, daß unsere Testlösungen auf 100 ml bezogen waren, während das Konzentrat 1 ml betrug.

Diesem Umstand muß Rechnung getragen werden, da durch die hohen Gehalte, namentlich an Mangan, die Elemente mit niedrigem Gehalte beeinflußt werden. Die zur Aufnahme der Eichkurven eingesetzten Testlösungsgemische müssen sich daher in den oben angegebenen Grenzen bewegen. Modellaufnahmen verschiedener Gemische von Testlösungen zeigen dies deutlich. Dabei wurde der Konzentrationsunterschied sehr kraß gewählt, um den Effekt deutlich zu machen. Es wurde jeweils ein Element konstant gehalten, während die fünf anderen in 10- und 100fachem Überschuß zugesetzt wurden.

Konstant p. p. m.	Überschuß Mn, Zn, Co, Ni, V	Δ S
Cu 5	0	— 0,14, — 0,11
	10fach	— 0,11, — 0,13
	100fach	— 0,58, — 0,60
Cu, Zn, Ni, V, Mn		
Co 5	0	0,47, 0,50
	10fach	0,61, 0,63
	100fach	— 0,98, — 0,99
Cu, Mn, Co, Ni, V		
Zn 5	0	0,64, 0,71
	10fach	0,32, 0,32
	100fach	— 0,48, — 0,48
Cu, Zn, Co, Ni, V		
Mn 5	0	0,41, 0,36
	10fach	0,41, 0,42
	100fach	0,08, 0,07
Cu, Mn, Zn, Co, Ni		
V 5	0	— 0,06, — 0,08
	10fach	0,04, 0,00
	100fach	0,10, 0,13

Auf Grund obiger Erfahrungen wurden zur Bestimmung der Spurenelemente in Bodenextrakten die Testlösungen hinsichtlich ihrer Gehalte auf die zu erwartenden Grenzen abgestimmt. Die folgende Tabelle zeigt die Analysenergebnisse der Spurenelemente in Bodenextrakten mit Wiederholung:

	Mn	Cu	Zn	Ni	Co	V
B	31,2	0,85	4,80	0,51	0,05	0,10
	28,4	0,79	4,20	0,49	0,05	0,10
C	42,5	0,72	3,50	0,50	0,03	0,09
	46,3	0,68	3,20	0,50	0,03	0,08
L	62,4	0,32	2,80	0,31	0,01	0,06
	65,1	0,35	2,40	0,28	0,01	0,05

Im Falle des Mangans überschreiten die Gehalte die Grenze von 1000 p. p. m., was eine gleichzeitige Aufnahme dieses Elementes unmöglich macht. Falls die kleinen Gehalte dies zulassen, arbeitet man, um Mangan mit erfassen zu können, in einem aliquoten Teil des Extraktes, falls dies nicht möglich ist, muß das Mangan am besten kolorimetrisch bestimmt werden. In diesem Fall setzt man jedoch den Eichlösungen eine ent-

sprechend hohe Menge Mangan in allen Testen zu.

Wenn es sich um die Bestimmung der Spurenelemente in Düng- oder Futtermitteln handelt, wird ein hoher Eisengehalt der Proben die Auswertung mit Eisen als Standard vereiteln. In diesem Fall ist es angezeigt, das Eisen nach der Anreicherung durch Ausäthern zu entfernen und wie angegeben weiter zu verfahren. Es ist auch denkbar, Cadmium als Standard einzuführen, doch müssen hier Beeinflussungen der Cd-Linien durch hohe Gehalte an Mangan und Eisen befürchtet werden, was vor der Bestimmung durch Testaufnahmen zu untersuchen ist.

Die Richtigkeit der geschilderten Methode zur Bestimmung der Spurenelemente soll in der Folge an Hand der in der Literatur beschriebenen kolorimetrischen Methoden geprüft werden, da bis jetzt sowohl die Emissions- als auch die Absorptionsmethoden in dieser Richtung auf Übereinstimmung noch nicht untersucht wurden. Die genauen spektrographischen Verhältnisse der Rädchenmethode darzustellen wird Gegenstand einer eigenen Veröffentlichung sein.

Zusammenfassung.

Es wird eine Methode zur Bestimmung der Spurenelemente in Böden, Pflanzen, Futter- und Düngemitteln beschrieben. Die Spurenelemente werden von den Hauptbestandteilen getrennt, durch Ausschüttelung mit komplexbildenden Verbindungen angereichert, nach Zerstörung der organischen Substanz die erhaltenen Konzentrate in Säure gelöst. Diese Lösungen werden auf einer Scheibe aus spektralreiner Kohle kontinuierlich aufgebracht und gleichzeitig im Funken spektrographiert. Die Auswertung erfolgt durch Vergleich mit Lösungen bekannten Gehaltes in üblicher Weise.

Aus dem Mineralogischen Institut der Universität Messina.

Untersuchungen über die Aluminium-Sperrschicht.5. Mitteilung^{2,3}: Über die Bedeutung der Homogenität, erläutert am Beispiel eines Reinstaluminiums.

Von

F. Pavelka* und R. Pieruccini.

* Adresse: Florenz, Via S. Ammirato, 22.

Mit 5 Abbildungen.

(Eingelangt am 28. Mai 1955.)

Wenn in der chemischen Praxis von reinen oder reinsten Stoffen die Rede ist, so wird damit nie ein definierter Zustand bezeichnet, sondern es handelt sich um ein sehr oberflächliches Werturteil, das seine Wurzeln in einer subjektiven Bewertung des *augenblicklich* Erreichbaren hat.

Die Reinheit eines Stoffes ist aber von allergrößter technologischer Bedeutung: Die Kurven, die irgendeine physikalische Eigenschaft darstellen, streben für 0,0...0% einer verunreinigenden Komponente einem Maximum oder einem Minimum zu und sie ändern sich (wegen der exponentiellen Form der Kurve) praktisch sprunghaft beim Auftreten einer gewissen kleinsten Menge eines verunreinigenden Stoffes, die in manchen Fällen definiert werden kann. Das Gesagte gilt in hervorragendem Maße von den Metallen und einige klassische Beispiele auf diesem Gebiete sind wohl allgemein bekannt.

Wenn die Verunreinigungen eines Stoffes zu beurteilen sind, kann dies nach zwei Gesichtspunkten erfolgen:

1. Man kann entweder nur die Menge der Verunreinigungen in einer soweit als möglich dem Durchschnitt entsprechenden Probe in Betracht ziehen, wobei man mit einer homogenen Verteilung der Begleitstoffe rechnet. Unter homogener Verteilung müßte man streng genommen jenen statistischen Zustand verstehen, wie er in den Lösungen oder Gläsern vorliegt. Da dies jedoch nur äußerst selten der Fall ist, so wäre es in jedem Falle wünschenswert, zur genauen Charakterisierung der in Frage stehenden Substanz das *minimale Raumelement* anzugeben, das, an einer beliebigen Stelle entnommen, das *gleiche Analysenresultat* ergibt.

Zu diesem Zwecke schlagen wir vor, den negativen Logarithmus des reziproken Wertes des Volumens des minimalen Raumelementes (Volumen in cm³), das an einer beliebigen Stelle entnommen die gleiche Zusammensetzung ergibt, als *Homogenitätsindex* zu bezeichnen.

2. Man kann auch auf die örtliche Verteilung der Zusatzelemente Rücksicht nehmen und in diesem Fall zusätzlich dadurch charakterisieren, daß man das Verhältnis der Raumelemente mit verschiedener Konzentration des Zusatzelementes sowie den Konzentrationssprung an der Grenzfläche zweier derartiger Raumelemente angibt.

Es wäre wichtig, auch einen eindeutigen Ausdruck für die Art der Verteilung zweier (oder mehrerer) Phasen einführen zu können (Verteilungsindex oder Verteilungsgüte). Die Schwierigkeiten erscheinen aber vorläufig unüberwindlich. In die Gleichung müßten als Unabhängige eingehen:

- a) das Volumenverhältnis der beiden Anteile,
- b) der Homogenitätsfaktor,
- c) ein Faktor, der die stereometrischen Verhältnisse möglichst genau

wiedergibt (siehe später),

c) die Konzentrationsdifferenz der beiden Anteile.

Es wird sich aber bei solchen Systemen in ganz seltenen Fällen wirklich nur um zwei Phasen handeln können. Gewöhnlich wird die Grenzfläche gegenüber den beiden durch sie begrenzten Phasen ausgezeichnet sein. Wir haben es somit im allereinfachsten Falle schon mit drei Phasen zu tun und die allgemeinen Beziehungen werden zu unübersichtlich.

Wir wollen nun diese beiden Fälle etwas ausführlicher betrachten.

ad 1: Es ist eine leider immer wieder anzutreffende Oberflächlichkeit, sich den Raum als absolutes Kontinuum vorzustellen. Die Umwelt zeigt uns aber überall Unstetigkeiten neben Stetigkeiten. Wir müssen uns jedoch vor allem bewußt sein, daß der Begriff der Stetigkeit und Unstetigkeit durchaus relativ ist, da ein mehr oder weniger differenzierender Maßstab nur von der Empfindlichkeit der benutzten Untersuchungsmethode abhängt. Es können Vorgänge einerseits makroskopisch gesehen sehr schroffe Übergänge zeigen, während sie bei genügend starker Vergrößerung kontinuierlich sind, andererseits kann durch das Aufeinanderfolgen vieler enger Diskontinuitätsbereiche, die unterhalb des Auflösungsvermögens der Untersuchungsmethode liegen, eine stetige funktionelle Beziehung vorgetäuscht werden.

Wenn es also vom benutzten Maßstab abhängt, ob die Änderung eines Parameters als kontinuierlich oder als diskontinuierlich anzusehen ist, so erscheint es klar, daß die Angabe des Maßstabes eine *wesentliche Voraussetzung* für die Beschreibung dieses Parameters ist.

Wollen wir in unserem Falle die Grundlage zur Beschreibung der chemischen oder strukturellen Diskontinuität schaffen, so können wir, da es sich um gestaltliche Körper handelt, den untersuchten Zustand durch Angabe stereometrischer Dimensionen, die von 0 bis ∞ variieren können kennzeichnen. Diesen großen Bereich kann man im Anschluß an *W. Ostwald*¹ in bestimmte Dimensionsgebiete unterteilen, und zwar:

I. Grobe Dimensionen.

1. Astronomische Dimensionen.
2. Geographische Dimensionen.
3. Makroskopische Dimensionen. Ihre Größenordnung ist bestimmt durch die mit unbewaffnetem Auge noch sichtbaren Diskontinuitäten unserer Umgebung. Die untere Grenze liegt bei etwa 0,1 mm.
4. Mikroskopische Dimensionen. Ihre Größenordnung ist bestimmt durch die mikroskopisch auflösbaren Diskontinuitäten. Diese liegen zwischen 0,1 und 0,0005 mm.

II. Submikroskopische oder kolloidale Dimensionen. Ihre Größenordnung ist bestimmt durch die Diskontinuitäten zwischen Lichtwellenlänge und den Größen der typischen Moleküle. Ihr Bereich liegt zwischen 0,0005 und 0,000001 mm.

III. Amikroskopische (diskrete) oder analytische Dimensionen. Ihre Größenordnung ist bestimmt durch die diskreten Diskontinuitäten der Materie, d. h. durch die Dimensionen der typischen Moleküle. Sie liegen unterhalb 0,000001 mm.

Für die Zwecke des Chemikers kommen die Gruppen I, 1 und I, 2 nicht in Betracht. Wenn wir die *Ostwaldsche* Einteilung der Dimensionen beibehalten wollen, können wir die Homogenität größenordnungsmäßig wie folgt charakterisieren:

- a) als diskrete (analytische) Homogenität,
- b) als submikroskopische (kolloide) Homogenität,
- c) als mikroskopische Homogenität und
- d) als makroskopische Homogenität.

Um den oben vorgeschlagenen Homogenitätsindex anschaulich zu gestalten, führen wir die nachfolgende Tabelle 1 an.

Tabelle 1.

Minimales Raumelement mit gleichem Analysenergebnis	Volumen in cm^3 V	$-\log \frac{1}{V}$	Dimensionen nach Ostwald	Homogenität
$(0,000\ 000\ 01\ \text{cm})^3$	10^{-24}	24	diskrete Dim.	21 = diskrete Homogenität
$(0,000\ 000\ 1\ \text{cm})^3$	10^{-21}	21		
$(0,000\ 001\ \text{cm})^3$	10^{-18}	18	kolloide Dim.	kolloide Homogenität
$(0,000\ 01\ \text{cm})^3$	10^{-15}	15		
$(0,000\ 1\ \text{cm})^3$	10^{-12}	12	mikroskopische Dim.	mikroskopische Homogenität
$(0,001\ \text{cm})^3$	10^{-9}	9		
$(0,01\ \text{cm})^3$	10^{-6}	6	makroskopische Dim.	makroskopische Homogenität
$(0,1\ \text{cm})^3$	10^{-3}	3		
$(1,0\ \text{cm})^3$	10^0	0	geographische Dim.	
$(10,0\ \text{cm})^3$	10^3	-3		
$(100\ \text{cm})^3$	10^6	-6		
$(1000\ \text{cm})^3$	10^9	-9		
$(10\ 000\ \text{cm})^3$	10^{12}	-12		
$(100\ 000\ \text{cm})^3$	10^{15}	-15		
$(1\ 000\ 000\ \text{cm})^3$	10^{18}	-18		
$(10\ 000\ 000\ \text{cm})^3$	10^{21}	-21		
$(100\ 000\ 000\ \text{cm})^3$	10^{24}	-24		

Wir halten es für ungemein wichtig, diese Überlegungen vor der Inangriffnahme von Analysen nicht zu vernachlässigen. Gerade die Mikroanalyse verleitet oft zur Probenahme von „Splittern“, „ebén sichtbaren Flittern“ u. ä. m. *Die Analyse kann vollkommen wertlos sein, wenn die Größe der Analysenprobe nicht der Größenordnung der Homogenität angepaßt ist.*

ad 2. In unserem Falle können wir je nach dem Dispersionsgrad der interessierenden bzw. unerwünschten Phase (Zusatzelemente bzw. Verunreinigungen) drei Fälle unterscheiden:

- a) grobe Dispersion: feste Einlagerungen, Mischungen (Nebeneinanderbestehen von Kristallen oder Kristallaggregaten verschiedener Reinheit);
- b) kolloide Dispersion: feste Sole;
- c) analytische Dispersion: feste Lösungen, Mischkristalle.

Nur die beiden letzten Fälle entsprechen einem Zustand, der, vom analytischen Standpunkt betrachtet, als homogen bezeichnet werden kann. Besonderes Interesse verdient die *kolloiddisperse* Verteilung eines Zusatzelementes oder einer Verunreinigung. Vom formalen Standpunkt ist es ganz gleichgültig, ob die Dispersion *eine* (laminare Dispersion) oder *zwei* (fibrillare Dispersion) oder *drei* (korpuskuläre Dispersion) Dimensionen betrifft. Nicht gleichgültig ist dies jedoch in bezug auf die Folgen in technologischer Hinsicht.

Nur im Falle der korpuskulären Dispersion können wir zu einer gleichförmigen stereometrischen Verteilung der dispersen Phase (Homogenität des Materials) gelangen, bei der alle drei Dimensionen gleichermaßen berücksichtigt sind (Abb. 1a). Dieses wäre bei fibrillärer Dispersion nur bei idealer Unordnung der Fibrillen möglich (Abb. 1b). Doch neigt diese Art von Dispersion bei der mechanischen Deformation mit Leichtigkeit zur Bildung geordneter Aggregate und infolgedessen differenzieren sich die Schnitte zweier Dimensionen (Linien) von der dritten (Punkte). Der Anteil der dispersen Phase in den betreffenden Schnittflächen kann bereits um Größenordnungen verschieden sein (Abb. 1c).

Noch bedeutender wird der Unterschied, wenn es sich um laminare Dispersion der zweiten Phase handelt (Abb. 1d). Sind die beiden Flächen dimensionen sehr klein in bezug auf den Abstand der einzelnen Teilchen, so kann es zu einer stereometrisch gleichmäßigen und ungeordneten Verteilung dieser Teilchen kommen und es hängt dann von den Dimensionen der Teilchen, ihrem Abstand und der Empfindlichkeit der Analysenmethode ab, ob das Material als homogen befunden wird oder nicht. Auch im Falle der laminaren Dispersion spielt die Neigung zur Bildung geordneter Aggregate eine große Rolle. Solche geordnete Aggregate

müssen sich aber bilden, sobald die Flächendimensionen größer sind als der Abstand der einzelnen Teilchen und die Ordnung wird umso vollkommener sein (Abb. 1 e), je größer das Mißverhältnis zwischen Flächenausdehnung und dem Abstand der laminaren Teilchen ist. Auch hier differenzieren sich wieder die Schnittflächen: In zwei Dimensionen erscheinen die dispersen Teilchen als Linien, in der dritten Dimension als Flächen. Wir können so in diffusen Systemen dieser Art zu einem Grenzfall gelangen, nämlich, daß ein untersuchtes Flächenstück entweder *aus-schließlich* durch die Fläche eines laminar-diffusen Teilchens (laminar-diffuses Teilchen parallel zur Oberfläche) dargestellt wird und die beobachteten Eigenschaften einem mengenmäßig geringfügigen Anteil des Materials zukommen, oder aber (laminar-diffuses Teilchen normal zur Oberfläche) das Grundmaterial durch die Lamellen in Körperelemente zerteilt wird, so daß das Grundmaterial mit seinen spezifischen Eigenschaften durch Lamellen mit anderen spezifischen Eigenschaften eine Struktur erhält, die durchaus der Schaumstruktur ähnlich ist². Während das gewöhnlich „Schaum“ genannte Gebilde immer einen großen Kontinuitätssprung aufweist, kann in dem oben beschriebenen Fall der Kontinuitätssprung von sehr verschiedener Intensität sein. *Diese Art von Struktur ist ungemein verbreitet und beeinflusst, oft ausschlaggebend, das chemische und physikalische Verhalten der Stoffe.*

Um die den makroskopischen Körpern eigentümlichen Eigenschaften deuten zu können, darf man nicht nur die amikroskopischen Bauelemente berücksichtigen, sondern muß ganz besonders die größeren Aggregate in Betracht ziehen, deren Dimensionen zwischen den diskreten Dimensionen einerseits und den makroskopischen Dimensionen andererseits liegen. Nicht — oder nicht nur — die chemisch-analytische Zusammensetzung, sondern die Art der Aggregation in größeren Dimensionen ist mit ihren Folgen kennzeichnend für eine Reihe von Eigenschaften makroskopischer Gebilde.

Spezieller Teil.

Bei der Beurteilung von Metallen müssen die erörterten Gesichtspunkte besonders dann herangezogen werden, wenn es sich um Probleme der Korrosion, der Polarisation, der Bildung von Schutzschichten u. ä. handelt und dies nicht nur bei der Auswertung und Beurteilung von Untersuchungsergebnissen, sondern vorzüglich bei der technologischen Eignungsprüfung. Hierbei werden die allgemeinen Materialeigenschaften oft auf das Niveau des „schwächsten Gliedes“ degradiert und da die vorkommenden Konzentrations Sprünge sehr erheblich sein können, ist dies oft mit einschneidenden technischen und wirtschaftlichen Folgen verbunden.

Auch bei oberflächlicher Betrachtung scheint die außerordentliche Wichtigkeit des Homogenitätsindex für Fragen der Korrosion und der Schutzschichtbildung auf. Dies gilt in ausgeprägtem Maße für das Aluminium, das wir hier im besonderen behandeln wollen.

Die Eigenschaften der Aluminiumsperrschicht leiten sich gleicherweise von den *chemischen* Eigenschaften der an ihrem Aufbau beteiligten Stoffe (Aluminium, Aluminiumoxyd, Aluminiumoxydhydrate, Art und Menge der adsorbierten Ionen, pH des Mediums während der Bildung der Schutzschicht) als auch von *stereometrischen* Größen ab. Die Sperrschicht selbst ist ein laminar-disperses System von typischer Wabenstruktur mit Diskontinuitäten kolloidaler Dimensionen parallel zur Oberfläche des Aluminiums. Größe, Form und Verteilung dieser Diskontinuitäten sind Voraussetzung aller Eigenschaften, die der Schutzschicht eigentümlich sind.

Haben nun die Oberflächenanteile mit einer Konzentration der Zusatz-elemente, die die zulässige Grenzkonzentration übersteigt, *kolloide* Dimensionen, so wird ihr Effekt auf die geometrische und strukturelle Gleichartigkeit der Schutzschicht einen praktisch zu vernachlässigenden Einfluß haben. Sind diese Oberflächenelemente aber wesentlich größer, so haben die resultierenden Fehlerstellen meßbare Folgen. Diese fallen in negativem Sinne weit mehr ins Gewicht als die erhöhte Güte der Schutzschicht auf den übrigen Flächenelementen erhöhter Reinheit und werden

durch diese nicht kompensiert. Um die notwendige stereometrische und strukturelle Gleichartigkeit zu erreichen, muß ein Homogenitätsindex größer als 14 vorliegen*.

* In diesem Zusammenhang scheint uns erwähnenswert, daß die Difformations- und Dispersitätsfunktionen niemals lineare Funktionen sind, sondern durch Maximum- oder Minimum- oder hyperbelartige Kurven dargestellt werden. Die charakteristischen Punkte dieser Kurven (Maximum bzw. Minimum bzw. Scheitel) dieser Funktionen liegen ausnahmslos im Gebiete der kolloidalen Dimensionen. (Wir verweisen beispielsweise auf Farbe, Lichtabsorption, Härte, Elektronenemission, photoelektrischen Effekt, heterogene Katalyse u. a. m.)

Im nachfolgenden wollen wir am Beispiel eines Reinstaluminiums (Raffinal, Hersteller: S. A. V. A., Porto Marghera, Italien) zeigen, zu welchen abnormalen Erscheinungen eine ungleichmäßige Verteilung der Zusatzelemente führen kann. Das Untersuchungsmaterial lag als Aluminiumfolie von 0,1 mm Dicke vor, die aus gegossenen Platten von ungefähr 40 kg gewalzt war. Vom Hersteller wird die Summe der Verunreinigungen mit 0,01 % angegeben. Die quantitative spektrographische Analyse ergab:

Fe	0,0030%
Cu	0,0005%
C	0,0025%
Ca	0,0040%
Mg	0,0025%
	0,0125%

Durch Ätzversuche war festgestellt worden, daß die Dimension der Kristallite in einigen Proben quer zur Walzrichtung bis zu 2 mm und mehr erreicht, während diese in der Walzrichtung zu langen Fäden oder Streifen auseinandergezogen sind. Für die spektrographische Analyse wurde das Aluminium daher in der Längsrichtung in Streifen von 2 mm geteilt und diese einzeln der Untersuchung unterzogen (Abb. 2).

Methoden der spektrographischen Analyse.

Aus den erwähnten Streifen wurde ein Elektrodenpaar gewonnen, das parallel so in die Elektrodenhalter eingespannt wurde, daß die Entfernung 2 mm betrug. Die Funkenstrecke ist auf diese Weise horizontal (Abb. 3). In den ersten zehn Sekunden krümmen sich die Streifen an den Enden. Der Zwischenraum wurde nun neuerdings auf 2 mm eingestellt und das Spektrogramm ohne weitere Nachregulierung aufgenommen. Die dem Abfunken unterworfenen Fläche ist ungefähr $1,5 \times 2,5$ mm, die während der Untersuchung verdampfte Metallmenge ist praktisch unwägbare.

Die Aufnahmen wurden mit dem Zeiss-Spektrographen Qu 24 ausgeführt. Weiters wurden verwendet: ein Funkenerzeuger nach *Feußner* mit einer Kapazität von 3000 pF und einer Selbstinduktion von 0,08 H, Platten „Ferrania ultracontrasto orto“. Die Belichtungszeit war durchwegs 180 Sekunden, die Spaltbreite 0,01 mm mit Zwischenblende 0. Die Photometrierung der Platten erfolgte mit einem Spektrallinienphotometer von Zeiss mit einer Spaltbreite von 0,2 mm. Die Linien wurden 20fach vergrößert auf den Spalt projiziert; der Spalt entsprach somit 0,01 mm auf der Platte. Ein Vorfunkeln der Probe wurde nicht vorgenommen.

Die Messungen wurden in der üblichen Weise ausgeführt, und zwar an folgenden Linien, die unter den üblicherweise empfohlenen ausgewählt worden waren:

Analysenlinien:	Vergleichslinien:
Ca I 3968,47 Å	
Cu I 3247,54 Å	Al I 3082,16 Å
C I 2478,55 Å	
Mg II 2802,69 Å	
Fe II 2755,74 Å	Al II 2816,19 Å

Mit Ausnahme des Calciums zeigten die Analysenlinien sehr geringe Schwärzungen, die ohne Zweifel Mengen dieser Elemente entsprechen, die

sehr nahe, aber unter der Grenze der Möglichkeit einer quantitativen Bestimmung liegen. Diese Schwärzungen befinden sich im Bereich der Unterexposition der verwendeten Platten, wenn auch ganz nahe dem Beginn des brauchbaren Teiles der Belichtungskurve. Diese Tatsache rechtfertigt es, in den Abb. 4a und 4b numerische Werte anzuführen, die aber allen Voraussetzungen entsprechen, um der Konzentration proportional zu sein.

Die Berechnung der in den Figuren enthaltenen Werte ist nach der Methode der mittleren reduzierten Ausschläge vorgenommen worden, um vergleichbare Resultate zu erhalten. Für jede Platte wurde das Mittel von 30 Ausschlägen der Linie $\text{AlI } 3082,16 \text{ \AA}$ (Al_X) bestimmt und auf diesen Mittelwert die experimentellen Ausschläge bezogen. Auf diese Weise wurden die reduzierten Ausschläge erhalten nach der Gleichung:

$$\text{Ca } I_R = \text{Ca } I_{ex} \frac{\text{Ca } I_X}{\text{Ca } I_{ex}}$$

Die Berechnung wurde für jedes der fünf Elemente in bezug auf die reduzierten Ausschläge (D_r) der Linien $\text{AlI } 3082,16 \text{ \AA}$ beziehungsweise $\text{AlII } 2816,19 \text{ \AA}$ durchgeführt und für jeden Wert die Größe $D_o - D_r = I_r$ bestimmt. (D_o = durch den Schleier bedingter Ausschlag, D_r = reduzierter Ausschlag der gemessenen Linien, I_r = reduzierte Intensität). Auf diese Weise werden die numerischen Werte vergleichbar und in erster Annäherung der Konzentration proportional. Da unter diesen Bedingungen die Empfindlichkeit des Nachweises der untersuchten Elemente ungefähr der gleichen Größenordnung ist (nur das Kupfer ist ein wenig empfindlicher), geben die in den Kurven eingetragenen Werte die Konzentration wieder.

In beiden Analysenreihen verhalten sich Eisen, Kupfer, Kohlenstoff und Magnesium sehr ähnlich. Das Kupfer weist einen Schwankungsbereich von 1 : 40 auf, das Eisen übertrifft dieses Verhältnis noch, da sein Gehalt an vielen Punkten auf den Wert Null absinkt. Für Kohlenstoff und Magnesium sind die Schwankungen bescheidener und erreichen nur das Verhältnis 1 : 2. Der Calciumgehalt kann im üblichen analytischen Sinne als konstant angesehen werden.

Die angewendete Auswertungsmethode der Spektrogramme und die sich daraus ergebende Proportionalität der Analysenwerte erlaubt den Schluß, daß die Verteilungsgüte der Begleitelemente wirklich vom Calcium gegen das Eisen abnimmt. Das Calcium in besonderem Maße und das Magnesium zeigen eine ganz geringe Tendenz zur Anreicherung an den Korngrenzen, während diese für das Kupfer und noch mehr für das Eisen sehr ausgeprägt ist. Diese Tatsache würde noch augenfälliger, wenn der Analysenbereich, räumlich genommen, noch wesentlich eingeengt werden könnte.

Auf diese Überlegungen gründen sich die folgenden Schlüsse praktischer Natur. Die in den Abb. 4a und 4b dargestellten Konzentrationskurven zeigen, daß die Konzentration der verschiedenen Verunreinigungen über die Breite des untersuchten Probestreifens (75 mm) praktisch parallel verläuft. Nur wenige Analysenpunkte unter den 300 untersuchten folgen nicht dieser Regel und wir können sie daher vernachlässigen. Wir beobachten das Auftreten der Maxima und Minima an der gleichen Stelle und ein Anwachsen in der Reihung $\text{Ca} < \text{C} < \text{Mg} < \text{Cu} < \text{Fe}$. Dieser Effekt kann nur teilweise der Abnahme der Liniendichte die, in demselben Sinne erfolgt, zugeschrieben werden.

Diese Analysenreihen betreffen das untere Grenzgebiet des makroskopischen Bereiches. Spektralanalytisch in den mikroskopischen Bereich einzudringen, scheint uns beim Aluminium mit überaus großen Schwierigkeiten verbunden zu sein. Wir haben aber gerade dieses Metall gewählt, weil uns hier eine Methode zur Verfügung steht, die stereometrisch Gebiete erfaßt, die sicher im Grenzgebiet zwischen mikroskopischen und kolloidalen Dimensionen liegen.

Bei geeigneter Wahl des Elektrolyten kann durch anodische Oxydation eine Schutzschicht hergestellt werden, deren Durchschlagsspannung von der Konzentration der verunreinigenden Elemente abhängig ist. Oxydiert man also zunächst eine Aluminiumprobe auf diese Weise und steigert

dann die Spannung langsam, so erreicht man einen Zustand, bei dem dauernd Durchschläge der Schutzschichte erfolgen. Dies geschieht vorzugsweise an den Fehlerstellen der Schutzschichte, die durch die erhöhte Konzentration der Verunreinigungen (Zusatzelemente) bedingt sind.

Die photographischen Aufnahmen dieses Vorganges werden in einem anderen Zusammenhang veröffentlicht.

An diesem Beispiel sollte gezeigt werden, daß die chemische Analyse eines Flächenelementes (der Aluminiumfolie) ein Resultat ergibt, dessen Wert im Hinblick auf die spezifische Verwendung der Folie von der *Dimension* des Flächenelementes abhängt. Ist das Flächenelement zu groß (z. B. 1 bis 3 cm², was einem Gewicht von 30 bis 100 mg entspricht), erhält man einen Durchschnittswert, der aber in diesem Falle nur bedingten Wert hat. Führt man die Analyse an einem 100mal kleineren Flächenelement aus (200 bis 300 µg), so wird der Analysenwert vollkommen wertlos, wie die Abb. 4b und 4a augenfällig zeigen. Erst der Vergleich einer größeren Zahl von Einzelanalysen solcher kleinster Flächenelemente erlaubt ein Urteil über die Verteilung der Begleitelemente und eine relative Abschätzung deren maximaler und minimaler Konzentration.

Ganz allgemein ist dies an einem Beispiel in Abb. 5 erläutert. Diese stellt schematisch einige nebeneinanderliegende Kristallite von der Breite k dar, die durch Korngrenzen verschiedener Zusammensetzung von der Breite d getrennt sind. Nehmen wir an

die Konzentration von Eisen in d sei $c_d = 1\%$
in k $c_k = 0$
 $d = 0,01$ mm
 $k = 1,00$ mm

so erhalten wir in der Probe eine mittlere Konzentration: $c_m = 0,01\%$. Unterziehen wir nun ein Streifenchen von der Breite a , das in der Längsrichtung entnommen und nach Abb. 3 als Elektrode verwendet wird, der Analyse, so können wir die beiden Grenzfälle erhalten:

Es kann a entweder ganz in $d(r)$ liegen oder ganz in $k(s)$ liegen und der bei der Analyse gefundene Gehalt (c_a) schwankt daher zwischen den Werten:

$$c_a = 0 \text{ und } c_a = c_d = \frac{k}{d} c_m = 100 c_m.$$

Alle anderen Möglichkeiten liegen *zwischen* diesen beiden Werten.

Besonders bei mikrochemischen Analysen ist es notwendig, sich vor jeder Probenahme über den Grad der Homogenität des Untersuchungsmaterials klar zu werden. Wenn wir es nicht mit analytischer Homogenität zu tun haben, *muß* nicht nur auf die *Menge*, sondern auch auf die *Form* der Probekörper sorgsam Rücksicht genommen werden.

Zusammenfassung.

1. Zur Charakterisierung der Verteilung einer Verunreinigung oder eines Zusatzelementes (Zusatzstoffes) wird der *Homogenitätsindex* vorgeschlagen; er wird definiert durch den negativen Logarithmus des reziproken Wertes des Volumens (in cm³) des kleinsten Raumelementes, das, an einer beliebigen Stelle entnommen, stets die gleiche Zusammensetzung hat.
2. An einer Reihe von Dispersionsmodellen werden Fehlerursachen stereometrischer Natur erörtert.
3. Die Notwendigkeit der Berücksichtigung der Homogenität bei der Probenahme für mikrochemische Analysen wird an einer großen Reihe von spektrophotographischen Einzelbestimmungen (300) nachgewiesen. Diese zeigen, daß die Zusammensetzung der einzelnen Flächenelemente ganz beträchtlich und in einer die Materialeigenschaften bestimmenden Weise von der Durchschnittsanalyse abweicht.

Literatur.

- ¹ W. Ostwald, Kolloid-Z. 55, 267 (1931). Siehe auch: A. v. Buzágh, Kolloid-Z. Leipzig: 1936.
- ² F. Pavelka, Kolloid-Z. 84, 303 (1938).
- ³ F. Pavelka, Kolloid-Z. 106, 206 (1944); 107, 139 (1944); 109, 145 (1944).

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/78.

Zeilenanzahl 183.

Istituto di chimica farmaceutica dell'Università di Ferrara.

Sul riconoscimento microchimica della β -fenil isopropilamina.

Gilda Cavicchi Sandri.

Con 7 Figure.

(Trasmesso 31 Maggio 1955.)

La β -fenil isopropilamina è stata introdotta in terapia già da molti anni ed il suo uso è andato generalizzandosi, data la sua notevole attività farmacologica e la sua bassa tossicità¹.

Essa possiede azione simpatomimetica ed una tipica azione neuro e psico-stimolante ben nota, che si traduce in una rapida diminuzione del senso della fatica fisica e psichica² e nella comparsa di un senso di euforia e di una maggiore capacità di lavoro.

La necessità di utilizzare però dosi relativamente elevate, non sprovviste di azioni secondarie, di cui la principale è indubbiamente l'insonnia, e la controindicazione nei casi di ipertensione, coronarite, ecc. ha condotto alla preparazione di derivati attivi a dosi notevolmente più basse e sprovvisti di dette azioni secondarie. Il principale di essi è la fenil 2-metil isopropilamina, nota in commercio coi nomi specializzati di pervitina e di psichergina. Sulla sintesi di tali composti mantengono importanza fondamentale le ricerche di *Mingoa*³.

Le reazioni di riconoscimento di queste basi sono fondate principalmente per la simpamina sulla sua capacità di formare composti colorati con idrossilamina⁴ che possono essere utilizzati anche per il dosamento colorimetrico.

Anche il cloruro di p-nitrobenzodiazonio dà per copulazione un prodotto colorato impiegato per il dosamento nelle urine⁵.

*Dessi*⁶ ha proposto un metodo di dosamento fotometrico del picrato in soluzione di cloroformio e toluolo, mentre *Vogel*⁷ ha messo a punto un metodo di riconoscimento della pervitina per trattamento con acido silicotungstico, con acido pierico, picrolonico e cloroplatinico.

Una differenziazione tra simpamina e pervitina è stata proposta da *Heubner*⁸ preparandone i singoli picrati e cloroplatinati e determinandone i punti di fusione.

La scarsità di reazioni di precipitazione che permettano di separare queste sostanze dalle soluzioni in cui possono essere contenute, mi ha indotto ad sperimentare il loro comportamento rispetto ad alcuni reattivi degli alcaloidi, atti a formare con molte sostanze a carattere basico composti di coordinazione insolubili, spesso dotati di abito cristallino caratteristico, tale da permetterne il riconoscimento microchimico all'esame microscopico.

In una nota precedente⁹ ho proposto l'impiego dello jodobismutito potassico per il riconoscimento e la differenziazione di derivati dell'acido nicotinico, ed inoltre ho proposto un nuovo reattivo, mai impiegato prima d'allora, cioè l'acido bromobismutico, capace esso pure di dare con basi organiche composti dotati di notevole insolubilità e di abito cristallino ben differenziato.

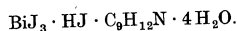
Il comportamento della β -fenil isopropilamina in soluzione debolmente solforica, rispetto alla soluzione di jodobismutito potassico si è mostrato particolarmente interessante.

La concentrazione della base rispetto alla quantità di reattivo impiega-

to e la temperatura esercitano una azione determinante sulla formazione dei composti di coordinazione. I primi tentativi eseguiti senza tener conto di questi fattori hanno dato origine alla precipitazione di due composti cristallini molto diversi per forma e colore che precipitavano contemporaneamente (figura 1). Una serie di prove accurate mi ha permesso di precisare le condizioni sperimentali necessarie perchè i due composti potessero precipitare separatamente; ognuno di essi è dotato di un abito cristallino caratteristico che si presta ad un riconoscimento microscopico della simpamina stessa. Infatti in presenza di soluzioni a notevole concentrazione di base e in presenza di piccole quantità di reattivo è possibile ottenere a freddo la separazione di un composto cristallino in laminette lucenti di color giallo aranciato (figura 2).

Sottoposto ad analisi il composto ha dato risultati concordanti con la formula: $\text{BiJ}_3 \cdot 2\text{HJ} \cdot \text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}$.

Se la stessa soluzione viene cautamente sottoposta a riscaldamento e addizionata ad una maggior quantità di reattivo, il composto che dapprima può essersi formato scompare e dopo qualche tempo si formano bellissimi cristalli prismatici di color rosso cupo (figura 3). Se si impiegano soluzioni molto diluite di base è possibile ottenere direttamente tale composto che precipita dopo qualche tempo. Esso sottoposto ad analisi diede risultati concordanti con la formula:



Questo comportamento si presenta veramente caratteristico e permette un rapido e sicuro riconoscimento microchimico della β -fenil isopropilamina nelle sue soluzioni e nei preparati di impiego terapeutico.

Ho poi sottoposto ad analoghe ricerche la fenil 2-metil isopropilamina ed ho potuto constatare come tale base presenti con il medesimo reattivo un comportamento nettamente differenziato: si ottiene infatti a qualunque concentrazione tanto della sostanza che del reattivo stesso un solo composto cristallino, ben differenziato dai precedenti, costituito da cristallini prismatici allungati di color rosso granato (figura 4).

Il composto, sottoposto ad analisi ha dato risultati concordanti con la formula: $\text{BiJ}_3 \cdot \text{HJ} \cdot \text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$.

Jodobismutito di simpamina I^o: per $\text{BiJ}_3 \cdot 2\text{HJ} \cdot 2\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N}$

Bi calcolato	18,72%	trovato	19,07%
J "	56,90%	"	56,22%
N "	2,51%	"	2,87%

Jodobismutito di simpamina II^o: per $\text{BiJ}_3 \cdot \text{HJ} \cdot \text{C}_9\text{H}_{12}\text{N} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$

Bi calcolato	21,75%	trovato	21,17%
J "	52,83%	"	52,80%
N "	1,45%	"	1,65%

Jodobismutito di pervitina: per $\text{BiJ}_3 \cdot \text{HJ} \cdot \text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$

Bi calcolato	23,14%	trovato	23,17%
J "	56,19%	"	56,28%
N "	1,55%	"	1,76%

A complemento di queste ricerche ho creduto opportuno studiare quale azione potesse esercitare su tali sostanze la soluzione di acido bromobismutico da me impiegato in precedenza per i derivati dell'acido nicotico^o. Solo da soluzioni nettamente acidificate con acido bromidrico la β -fenil isopropilamina lascia separare un prodotto cristallino omogeneo costituito da cristalli cubici di color giallo pallido (vedi figura 5). Il composto sottoposto ad analisi ha dato risultati concordanti con la formula: $\text{BiBr}_3 \cdot 3\text{HBr} \cdot 3\text{C}_9\text{H}_{12}\text{N} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$.

Ogni tentativo di isolare un derivato analogo dalle soluzioni di fenil 2-metil isopropilamina è riuscito vano e almeno nelle condizioni da me sperimentate non è possibile ottenere il relativo bromobismutito.

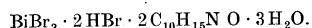
Tale comportamento differenziato delle due basi rende sufficientemente specifico l'impiego dell'acido bromobismutico per il riconoscimento della β -fenil isopropilamina, anche se tale reazione presenta una sensibilità minore, come è logico, di quella precedente.

Ho poi ritenuto opportuno indagare il comportamento rispetto agli stessi reattivi di altre basi aventi costituzione chimica analoga.

Meritano di essere ricordati i risultati ottenuti con l'efedrina.

Era già noto che per trattamento con il reattivo iodobismutico dalle soluzioni di efedrina si può ottenere un composto ben cristallizzato in sottili aghi di color rosso cupo, veramente caratteristici, come risulta dalla figura 6.

Per trattamento di soluzioni bromidriche di efedrina con acido bromobismutico è stato possibile ottenere la separazione di sottili lamine lucenti di color giallo oro, dotate di notevole insolubilità. Tale composto, (avente l'aspetto rappresentato nella figura 7) all'analisi ha dato risultati concordanti con la formula;



Dall'esame della letteratura chimica risulta che tale composto non era mai stato prima d'ora ottenuto.

Bromobismutito di simpamina: per $\text{BiBr}_3 \cdot 3 \text{HBr} \cdot 3 \text{C}_9\text{H}_{12}\text{N} \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$

Bi calcolato	18,16%	trovato	18,04%
Br „	41,66%	„	41,65%
N „	3,65%	„	3,74%

Bromobismutito di efedrina: per $\text{BiBr}_3 \cdot 2 \text{HBr} \cdot 2 \text{C}_{10}\text{H}_{15}\text{N O} \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$

Bi calcolato	21,01%	trovato	21,01%
Br „	40,16%	„	40,03%
N „	2,81%	„	2,96%

Riassunto.

Viene proposto l'impiego di una speciale soluzione di iodobismutito potassico per il riconoscimento e la differenziazione microchimica della β -fenil-isopropil-amina e della N-metil-fenil-isopropilamina.

Mentre la prima di tali basi forma due composti aventi abito cristallino caratteristico e ben differenziati tra loro, con diversa costituzione chimica, dalla seconda si ottiene un solo composto dotato di forma cristallina caratteristica.

Inoltre mentre la β -fenil-isopropilamina dà con soluzione di acido bromobismutico un composto cristallino avente forma caratteristica e costituzione chimica ben definita, la N-metil-fenil-isopropilamina non reagisce con tale reattivo.

Zusammenfassung.

Die Anwendung einer speziellen *Kalium-Wismutjodid-Lösung* wird für den mikrochemischen Nachweis und die Unterscheidung von β -Phenylisopropyl-amin und N-Methyl-phenyl-isopropyl-amin vorgeschlagen. Während die erstere dieser Basen zwei Verbindungen bildet, die einen charakteristischen Kristallhabitus aufweisen und bei verschiedener chemischer Konstitution sich gut voneinander unterscheiden, erhält man aus der letzteren nur eine Verbindung, die sich durch eine charakteristische Kristallform auszeichnet. Während ferner das β -Phenyl-isopropyl-amin mit Bromwismutsäure eine Verbindung mit charakteristischer Kristallform und wohldefinierter chemischer Konstitution ergibt, reagiert das N-Methyl-phenyl-isopropyl-amin mit diesem Reagens nicht.

Bibliografia.

- ¹ J. Davies, Brit. Med. J. **1937**, 615.
- ² M. H. Nathanson — J. Amer. Med. Assoc. **108**, 528 (1937).
- ³ Q. Mingoia, Ann. chim. farmaceutica **4**, 11 (1940); B. S. P. **48**, 202 (1941).
- ⁴ E. T. Illing, Analyst **65**, 3 (1940).
- ⁵ K. H. Beyer e J. T. Skinner, J. Pharm. Exp. Ther. **68**, 419 (1940).
- ⁶ P. Dessi, Farmaco **5**, 32 (1950).
- ⁷ G. Vogel, Dtsch. Z. ges. gerichtl. Med. **41**, 420 (1952).
- ⁸ W. Heubner, Arch. exper. Pathol. Pharmacol. **204**, 367 (1947).
- ⁹ Gilda Cavicchi, Mikrochem. **36/37**, 1015 (1951).

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/79.

Zeilenanzahl: 173.

Ecole Nationale Supérieure de Chimie de Toulouse.

Détermination microchimique de l'indium.

Par

J. Barlot.

(Reçu le 31 mai 1955.)

On a proposé pour la détection de l'indium diverses réactions microchimiques cristallines, mais la plupart n'ont qu'un intérêt relatif, parce qu'elles ne sont pas très sensibles ou non spécifiques.

Dans la pratique, on aura surtout à rechercher l'indium en présence du zinc, ou dans le groupe des cations précipitables par le mélange ammoniacal — chlorure d'ammonium, c'est-à-dire avec Al, Fe et Ga.

La réaction qui utilise la formation du fluorure double d'ammonium et d'indium, — $(\text{NH}_4)_3\text{InFe}_6$ —, donne des octaèdres souvent assez nets, mais malheureusement le sel correspondant d'aluminium présente à peu près les mêmes formes cristallines, d'où une cause d'erreur possible si l'on n'est pas certain de l'absence de l'ion Al.

La formation d'oxalate d'indium, — $\text{In}_2(\text{C}_2\text{O}_4)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ —, préconisée par quelques auteurs, donne un précipité souvent constitué par des cristaux excessivement petits, difficiles à observer, et surtout à différencier de ceux des oxalates de zinc. Dans le cas d'un mélange avec ces derniers, on peut, au moins théoriquement, faire la séparation par un traitement à l'ammoniacal qui ne dissout pas le sel d'indium, mais les résultats ne sont pas assez probants. De plus il y a lieu de tenir compte de la solubilité de l'oxalate dans l'eau, qui est loin d'être négligeable, même à froid. Le fait d'employer l'acide oxalique ou un oxalate soluble ne change à peu près rien aux résultats.

La diagnose de l'indium au moyen des chloroindates alcalins octaédriques, sels doubles que forme le trichlorure d'indium avec trois molécules d'un chlorure alcalin, est, dans son ensemble plus précise, mais seuls les chloroindates de rubidium et de césium sont utilisables dans la pratique; le sel de potassium, notamment, est trop soluble.

Le chloroindate de césium se présente, — ce qui est normal —, en cristaux plus petits et moins solubles que ceux du sel de rubidium, mais ils sont toujours très nets et faciles à identifier. On notera cependant l'abondance de formes hémédriques diverses, dérivées de l'octaèdre type, et qui dessinent fréquemment des silhouettes hexagonales ou des triangles plus ou moins tronqués.

La sensibilité est de l'ordre de 0,0002 à 0,0001 mg. A noter que les sels de Zn, d'Al et de Ga ne sont pas gênants tant que leur pourcentage ne dépasse pas 50%.

La préparation se fait par addition d'un cristal de chlorure de rubidium ou de césium à une goutte de solution chlorhydrique d'indium: la formation des cristaux très réfringents des chloroindates est immédiate, puis se développe avec le temps.

Nous avons constaté que les chlorures alcalins peuvent être remplacés sans aucun inconvénient par des cristaux des nitrates correspondants, à condition que la solution à examiner contienne un léger excès d'acide chlorhydrique.

On a signalé une imperfection due au fait que les chloroindates ressemblent beaucoup aux chlorostannates du type $\text{SnCl}_4 \cdot 2\text{RCl}$, mais il est possible, sinon facile, d'éliminer cette cause d'erreur; on remarquera en outre que l'étain est rarement associé à l'indium. La vérification peut se faire en opérant comme suit: à la préparation montrant les

cristaux octaédriques dont on veut préciser la nature, on ajoute une goutte d'une solution aqueuse d'un sulfure alcalin; les chloroindates virent au jaune plus ou moins foncé, tandis que les chlorostannates brunissent.

Cependant la différence des colorations n'est pas toujours très concluante, et de plus il faut procéder à un lavage complet de la préparation avant d'ajouter le sulfure, ce qui peut être très délicat, surtout en présence de fer. Dans ce cas, un lavage imparfait pourrait provoquer la formation d'un voile brun ou noir de sulfure de fer rendant toute observation impossible.

La précipitation de l'indium à l'état métallique ne paraît pas avoir été mise à profit en analyse qualitative, bien que l'on ait parfois utilisé le déplacement par le zinc pour la séparation de certaines quantités d'indium¹.

L'expérience montre que l'indium peut être déplacé de ses solutions salines par différents métaux, notamment par le zinc, l'aluminium et le magnésium. De ces trois corps, le zinc est le plus commode à employer sous l'objectif du microscope. Avec le magnésium on est gêné par le dégagement des bulles d'hydrogène qui se produit dès que le pH est plus petit que 6; avec l'aluminium la précipitation est souvent difficile à amorcer, très lente à se propager, et fréquemment incomplète.

Nous avons signalé, dans des travaux antérieurs anciens², comment il est possible de déterminer la structure cristalline d'un métal, en étudiant les dendrites qu'il donne lorsqu'il est déplacé de ses solutions par un autre métal plus électro-négatif que lui, et nous avons ainsi, pour la première fois, mis en évidence la symétrie hexagonale du thallium, qui fut confirmée ensuite par d'autres méthodes.

En différents points de la zone de contact entre le métal précipitant et la solution à étudier, se développent des cristaux métalliques, dont les axes servent ensuite de directions privilégiées pour le développement de ce que nous avons appelé les formes squelettiques ou le squelette du cristal. Cette croissance dans les directions des axes de symétrie peut être très rapide, et parfois difficile à suivre au microscope pour cette raison. Dans certains cas, les intervalles laissés entre les axes des cristaux se combinent peu à peu, pour donner des blocs définitifs ayant parfois de grandes dimensions.

Le phénomène observé apparaît en définitive comme la résultante de plusieurs causes distinctes.

1° En premier lieu, la symétrie de structure du métal précipité conditionne la matérialisation des directions privilégiées de croissance.

2° En second lieu, la différence de potentiel entre le métal précipitant et la solution paraît déterminer surtout la vitesse de formation des dendrites, et leur expansion plus ou moins rapide autour du centre initial, sans modifier la symétrie cristalline.

3° Enfin, la résistance mécanique rencontrée par les dendrites dans le milieu où elles se développent perturbe parfois leur croissance; cette résistance peut être due à la concentration en sels dissous, à la présence de colloïdes étrangers (gélamines, gommes, etc.), ou à des sous-produits d'hydrolyse. Ces obstacles au développement normal peuvent amener des déformations plus ou moins importantes, lignes infléchies, arborescences, etc., et compliquent les observations.

A remarquer que la croissance d'une dendrite suppose que le contact entre le métal précipitant et les cristaux métalliques en formation ne se rompt pas. Une dendrite brisée ne s'accroît plus, elle peut même se redissoudre totalement. C'est la raison pour laquelle on doit éviter, comme nous l'avons mentionné plus haut, le dégagement de bulles de gaz dans la préparation examinée.

L'indium cristallise dans le système tétragonal, mais diffère peu du cube, en raison du rapport des axes très voisin de 1. On a aussi signalé des aggrégats cristallins en forme d'arborescences, quand on isole de l'indium par électrolyse avec des électrodes pointues.

Nous effectuons la précipitation avec des fragments de zinc distillé pur, mis en contact avec la solution à identifier; celle-ci est de préférence

chlorhydrique, et aussi voisine que possible de la neutralité. La précipitation est immédiate; on voit apparaître des files de cristaux d'indium, portant des ramifications de symétrie quadratique caractérisées par un angle constant de 90° . De plus, en faisant légèrement varier la mise au point, on peut observer dans l'épaisseur de la goutte d'autres ramifications dans l'espace, qui matérialisent les axes secondaires des octaèdres.

Avec un peu d'habitude, il est facile de distinguer les dendrites de l'indium de celles du plomb ou de l'étain stanneux, avec lesquelles il y a parfois quelques analogies. Il est d'ailleurs très possible, en cas de doute, de caractériser le dépôt métallique par dissolution dans l'acide nitrique dilué, après lavage complet. L'étain donne facilement un dépôt insoluble d'oxydes; le plomb peut être rapidement identifié par formation des lamelles hexagonales polychroïques d'iodure.

D'autres séries d'essais sont encore en cours, mais il ne semble pas y avoir de perturbations à craindre dans les cas les plus courants.

La sensibilité du test paraît bonne, et l'on a mis en évidence par ce moyen des quantités d'indium de l'ordre de 0,0001 mg.

Résumé.

Parmi les réactions microchimiques actuellement connues bien peu se prêtent à une caractérisation facile, dans le cas où l'indium est en mélange avec des quantités notables d'autres métaux du même groupe; la méthode au chloro-indate de rubidium, avec quelques modifications, peut fournir d'utiles indications.

La précipitation de l'indium à l'état métallique, non employée jusqu'à ce jour, permet une détection précise dans de bonnes conditions.

On décrit les observations faites dans différents cas, notamment en présence de fer, d'étain, de cadmium, en utilisant comme métal précipitant le zinc, le magnésium et l'aluminium.

Zusammenfassung.

Unter den bis jetzt bekannten mikrochemischen Reaktionen finden sich nur wenige, die sich für einen einfachen Nachweis des Indiums eignen, wenn sich dieses Element in Gesellschaft größerer Mengen anderer Metalle derselben Gruppe vorfindet. Unter gewissen Modifikationen kann der auf dem Rubidiumchlorindat beruhende Nachweis sich nützlich erweisen.

Die Fällung des Indiums als Metall, die bis jetzt nicht verwendet wurde, gestattet einen genauen Nachweis unter günstigen Bedingungen. Es werden die für bestimmte Fälle, besonders für die Gegenwart von Eisen, Zinn und Cadmium unter Verwendung von Zink, Magnesium und Aluminium als Reduktionsmittel durchgeführten Beobachtungen mitgeteilt.

Bibliographie.

¹ *Gmelins Handbuch der anorganischen Chemie*, n° 37, Indium. Berlin: J. Springer, p. 25.

² *J. Barlot, Ann. chim.* 6, 88 (1926).

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/80.

Zeilenanzahl 541.

Istituto di Chimica Agraria dell'Università di Bologna.

Neue Ergebnisse zur Mikrobestimmung der Phosphorsäure und ihre Anwendung zur Bestimmung der leichtest löslichen Phosphate in Böden.

Von

Carlo Ferrari.

(Eingelangt am 31. Mai 1955.)

I. Neue Erkenntnisse über die Molybdänblau-Kolorimetrie.

Seitdem *Denigès* vorgeschlagen hat, Spuren von Phosphor und Arsen mit einer neuen Methode zu bestimmen, die er „*céruléo-molybdimétrie*“ genannt hat¹, sind Phosphormolybdänblau, Arsenmolybdänblau und Silicomolybdänblau in den verschiedensten Gebieten der Chemie angewandt worden. Obwohl noch nicht mit Sicherheit die Zusammensetzung dieser blauen Verbindungen feststeht, wird doch allgemein angenommen, daß sie sich durch Reduktion eines Teiles des sechswertigen Molybdäns der Heteropolysäuren zur fünfwertigen Form bilden. Für analytische Zwecke interessiert nur die Tatsache, daß die Extinktion der erhaltenen blauen Lösungen — unter bestimmten Arbeitsbedingungen — der Konzentration des zu bestimmenden Elementes, d. h. des P(V), As(V) und Si(IV), proportional ist.

Eine ganz besondere Beachtung verdient im Hinblick auf die biologische Bedeutung dieses Elementes die Mikrobestimmung des Phosphors sowie die der löslichen Kieselsäure, wobei besonderes Augenmerk auf die Möglichkeit einer Störung der Phosphorsäurebestimmung durch die Kieselsäure zu richten ist.

Neuere Untersuchungen des Verfassers haben wesentliche neue Erkenntnisse über die Phosphor- und Silicomolybdänsäure und ihre blauen Reduktionsprodukte gebracht: es ist anzunehmen, daß diese Klarstellungen dazu beitragen werden, endlich den schädlichen Empirismus zu beseitigen, der auf dem Gebiete der Molybdänblau-Kolorimetrie geherrscht hat. Besondere Bedeutung hat dies für die Bestimmung der Phosphorsäure, für die viele Forscher spezielle Vorschriften ausarbeiten mußten, die einem bestimmten Zwecke dienen konnten, aber nicht allgemein anwendbar sind.

Da diese neuen Erkenntnisse die Grundlage der im zweiten Teil beschriebenen Arbeitstechnik darstellen, halten wir es für nützlich, sie hier kurz zusammenzufassen, während wir für nähere Details auf die zitierten Publikationen verweisen.

Es muß besonders hervorgehoben werden², daß die Phosphormolybdänsäure, die sich sofort bildet, wenn man eine Lösung, die weniger als 1 mg Phosphorpentoxyd enthält, unter geeigneten Bedingungen (pH) mit Molybdat zusammenbringt, in zwei verschiedenen Formen, einer gelben und einer farblosen zu bestehen scheint. Es besteht eine Art Gleichgewicht zwischen diesen beiden Formen, das durch die Acidität und die Temperatur derart beeinflusst wird, daß eine Erhöhung der Temperatur und eine Erniedrigung des Säuregehaltes die Bildung der gelben Form bevorzugt vor sich gehen läßt.

Es konnte weiter gezeigt werden, daß das Zinn(II)chlorid, das eines der meistverwandten Reduktionsmittel besonders auf dem Gebiete der Agrikulturchemie ist, beide Formen, die gelbe und die farblose, reduzieren kann, während die 1,2,4-Amino-naphthol-sulfonsäure*, das

* Diese Säure, auch unter dem Namen Eikonogen bekannt, ist der wesent-

liche Bestandteil des Reagens von *Fiske* und *Subbarow*, das von den Biochemikern viel verwendet wird.

Reagens von *Zinzadze***, das Hydrazin und die Ascorbinsäure nur mit

** Es besteht aus einer Lösung von Ammoniummolybdat, das mit Molybdänpulver teilweise reduziert ist, in konz. Schwefelsäure.

der gelben Form allein reagieren können. Da das Phosphormolybdänblau, das aus der gelben Form entsteht, eine deutlich verschiedene Absorptionskurve hat von dem aus der farblosen Form gebildeten, ergibt sich die Notwendigkeit, nur die Reduktionsmittel der zweiten Gruppe anzuwenden und die Reaktion in der Wärme vorzunehmen, um so das Gleichgewicht gänzlich auf die Seite der gelben Form zu verschieben. Wir erhalten auf diese Art nur das der gelben Form entsprechende Molybdänblau. Es konnte nachgewiesen werden, daß nur auf diese Weise absolut genaue und reproduzierbare Analysenergebnisse erzielt werden können, wobei Hydrazinsulfat oder Ascorbinsäure als die empfehlenswertesten Reduktionsmittel zu gelten haben.

Eine andere erwähnenswerte Feststellung ist folgende: läßt man in der Kälte eines der Reduktionsmittel, das nur mit der gelben Form der Phosphormolybdänsäure reagiert, auf diese einwirken, so verläuft die Reaktion in zwei deutlich verschiedenen Stufen. Die erste Stufe verläuft in wenigen Minuten in der Kälte und besteht in der *Reduktion* eines Teiles des sechswertigen Molybdäns in die fünfwertige Form; die zweite Stufe spielt sich sehr langsam in der Kälte und rascher in der Wärme ab. Sie besteht in einer Art *Stabilisierung* des molekularen Gefüges und führt zu jenem Molybdänblau, das eine definierte, konstante und charakteristische Absorptionskurve besitzt, der einzigen Form von Molybdänblau, das für analytische Zwecke verwertbar ist.

Endlich konnte noch festgestellt werden, daß die Acidität auf die Geschwindigkeit des Ablaufs sowohl der ersten Stufe (Reduktion) als auch der zweiten Stufe (Stabilisierung) einen ganz hervorragenden Einfluß hat, und zwar wird durch Erhöhung der Acidität die erste Stufe verlangsamt, während die zweite beschleunigt wird.

Wie allgemein bekannt, wird die Reaktion gewöhnlich in schwefelsaurer Lösung vorgenommen. Es ist nötig, die Säuremenge der verwendeten Molybdatmenge anzupassen. Man hat eine Molybdatmenge, die 60 mg MoO_3 entspricht, für günstig befunden, eine Menge, die sicher im Überschuß ist, wenn weniger als 1 mg Phosphorsäure-Anhydrid bestimmt werden soll. Zusammen mit dieser Molybdatmenge müssen 35 bis 40 ml n Schwefelsäure angewandt werden, um die Bildung des sogenannten „reinen“ Molybdänblaus* zu verhindern, da dieses die

* Es besteht aus Oxyden des fünfwertigen Molybdäns, entstanden durch die Wirkung des Reduktionsmittels auf einen Teil der unverändert gebliebenen Molybdänsäure. Wenn die Reduktion in genügend saurem Medium durchgeführt wird, erhält man keine Blaufärbung, sondern eine Gelbfärbung, da die Mineralsäure das Molybdänpentoxyd bindet und seine Umsetzung mit der Molybdänsäure verhindert.

kolorimetrische Bestimmung des Phosphors unmöglich machen würde.

Auf den eben dargelegten Tatsachen beruht die Arbeitstechnik zur Bestimmung von Spuren anorganischer Phosphatenatur in Abwesenheit von Phosphorsäureestern, Arseniaten und löslicher Kieselsäure**.

** Es wird folgendes Verfahren vorgeschlagen: Ein bekanntes Volumen (5 bis 50 ml) der Probelösung wird in einem 250-ml-Erlenmeyerkolben mit Wasser auf 70 bis 80 ml verdünnt und 5 ml 8-n Schwefelsäure und 5 ml der 1,44%igen Ammoniummolybdatlösung (1 ml dieser Lösung entspricht 12 mg MoO_3) hinzugefügt. Man setzt nun das Reduktionsmittel zu (2 ml der 2,5%igen frisch bereiteten Ascorbinsäurelösung oder 1 ml 1%ige Hydrazinsulfatlösung) und stellt für 30 Minuten auf ein siedendes Wasserbad. Nach Abkühlen füllt man in einem Meßkolben auf 100 ml auf, mischt gut durch und führt die photometrische Messung aus. Aus der Extinktion der Lösung wird ihre Konzentration berechnet.

Enthält die zu untersuchende Lösung außer anorganischem Phosphor auch Phosphorsäureester, so führt eine Erwärmung in saurem Medium zu deren Hydrolyse, die, wenn auch mehr oder minder unvollständig, falsche Ergebnisse zur Folge hätte.

Es ist aber trotzdem möglich, eine Bestimmung der anorganischen

Phosphorsäure durchzuführen, wenn man die bereits besprochene³ Tatsache berücksichtigt, daß die Bildung „reinen“ Molybdänblaus nicht nur bei den oben angegebenen Schwefelsäurekonzentrationen, sondern auch bei geringer Acidität verhindert wird. Man kann in sehr schwach sauren Lösungen (pH zwischen 4 und 5) die Stufe der „Reduktion“ der Phosphormolybdänsäure in wenigen Minuten bei Zimmertemperatur zu Ende führen, wenn man als Reduktionsmittel Ascorbinsäure verwendet⁴. Um dann die zweite Stufe der Reaktion (Stabilisierung) ablaufen zu lassen, wurde rasches Ansäuern der in der Kälte „reduzierten“ Lösung mit einer entsprechenden Menge Schwefelsäure und nachfolgende Erwärmung vorgeschrieben. Die hier verwendete Schwefelsäuremenge ist viel größer als die unter normalen Umständen notwendige, weil festgestellt werden konnte, daß das Phosphormolybdänblau, wenn es noch nicht stabilisiert ist, der Säure gegenüber viel widerstandsfähiger ist als die entsprechende Heteropolysäure (Phosphormolybdänsäure), und zwar auch in der Wärme. Die anzuwendende Säuremenge für die gewöhnliche Molybdätmenge (d. h. für 60 mg MoO_3) beträgt 17 ml 8-n Schwefelsäure. Sie wirkt nicht auf das Phosphormolybdänblau ein, ist aber imstande, die Bildung der Phosphormolybdänsäure zu verhindern bzw. diese zu zerstören. Man kann also ohne weiteres auf dem Wasserbad erwärmen, falls die angegebenen Reagenzienmengen angewendet werden, ohne befürchten zu müssen, daß es zu einer Zunahme der Färbung infolge der Freimachung von Phosphorsäure aus den in der Probe befindlichen Phosphorsäureestern kommen könnte.

Wenn man also nach den gemachten Angaben vorgeht, kann man Spuren von anorganischen Phosphaten in Gegenwart von organischen Phosphaten (auch sehr labilen) bestimmen, wenn man nur die „Reduktion“ der Phosphormolybdänsäure bei einem möglichst hohen pH (4 bis 5) und in kürzester Zeit (wenige Minuten) vornimmt.

Es wird empfohlen, nach der in der Fußnote* angegebenen Weise zu verfahren.

* Ein geeignetes Volumen der Probelösung (5 bis 50 ml), die einem Bruchteil eines mg an P_2O_5 entspricht, wird in einen 250-ml-Erlenmeyerkolben pipettiert und eventuell auf ein pH zwischen 4 und 5 mit einem Natriumacetat-Essigsäurepuffer abgepuffert. Man setzt 5 ml der 1,44%igen Ammoniummolybdatlösung (entsprechend 60 mg MoO_3) und 2 ml der 2,5%igen frisch-bereiteten Ascorbinsäurelösung zu. Man läßt 5 bis 10 Minuten bei Raumtemperatur stehen, um die „Reduktionsphase“, die zur Molybdänblaubildung führt, ablaufen zu lassen. Hierauf säuert man rasch und unter sorgfältigem Schütteln mit 17 ml 8-n Schwefelsäure an. Man stellt den Kolben zwecks Stabilisierung der Färbung für 15 bis 30 Minuten auf ein siedendes Wasserbad, läßt abkühlen, füllt in einem Meßkolben auf 100 ml auf und photometriert.

Eine Störungsquelle, der man immer Rechnung tragen muß, wenn man unter den eben beschriebenen Bedingungen anorganischen Phosphor in Gegenwart organischer Phosphate bestimmen will, kann bei der „löslichen Kieselsäure“ liegen, die sowohl in biologischen Flüssigkeiten als auch in Pflanzenextrakten, Bodenauszügen oder auch in den Reagenzien, wie z. B. im Natriumacetat des Puffers, vorkommen kann.

Es ist bekannt, daß auch die Kieselsäure von niedrigem Molekulargewicht (die sogenannte „lösliche Kieselsäure“) imstande ist, in einem Medium geeigneter Acidität die Hetero-poly-silico-molybdänsäure zu bilden, die dann unter ähnlichen Bedingungen wie die betreffende Phosphorverbindung zu Silicomolybdänblau reduziert wird.

An anderer Stelle⁵ hat der Verfasser das Verfahren zur Bestimmung der löslichen Kieselsäure beschrieben. Es ist vor allem notwendig, die quantitative Bildung des Silicomolybdänkomplexes zu gewährleisten. Diese Reaktion läuft aber nicht so schnell ab wie die der Phosphorsäure, sondern sie braucht bei optimaler Acidität ($pH = 1,5$ bis 1,8) einige Minuten^{**}, um quantitativ abzulaufen⁶.

** Es konnte klargelegt werden⁶, daß die Bildung der Silicomolybdänsäure nur in Gegenwart kleiner Mengen von Schwefelsäure möglich ist: nur unter dieser Bedingung ist die Molybdänsäure frei. Wenn beträchtliche Mengen von Schwefelsäure vorhanden sind, liegt in der Lösung nicht freie Molybdänsäure, sondern Molybdänschwefelsäure vor, die nicht im Stande ist, mit $Si(IV)$ zu reagieren. Mit anderen Worten: die Schwefelsäure entzieht der

Kieselsäure das MoO_3 in dem Maße, daß die Bildung des Komplexes verhindert wird. Andere Säuren (Oxalsäure, Zitronensäure usw.) haben eine noch größere Gegenwirkung, da die betreffenden Komplexsäuren (Molybdänoxalsäure, Molybdänzitronensäure) ganz bedeutend stabiler sind als die Molybdänschwefelsäure. Wie bekannt, wurde diese Tatsache bereits zur Bestimmung der Phosphorsäure in Gegenwart löslicher Kieselsäure benützt.

Besondere Versuche⁶ haben gezeigt, daß auch die Silicomolybdänsäure in zwei Formen, einer gelben und einer farblosen, vorkommt; diese Formen befinden sich in einem Gleichgewicht, das aber weder durch die Temperatur noch durch die Acidität merklich beeinflusst wird, im Gegensatz zum Verhalten der entsprechenden Verbindungen des Phosphors. Ein anderer grundlegender Unterschied zwischen den beiden Heteropolysäuren, der zu analytischen Zwecken ausgenutzt werden kann, ist das Verhalten gegenüber Säuren. Während die Phosphormolybdänsäure gegenüber Säuren sehr wenig beständig ist (17 ml 8-n Schwefelsäure zerstören augenblicklich die Verbindung), ist dagegen die Beständigkeit der Silicomolybdänsäure ganz bedeutend, wenn sich die Verbindung einmal in einem Medium schwacher Acidität gebildet hat. Die 17 ml der 8-n Schwefelsäure üben auf sie keine zersetzende Wirkung aus.

Wenn man in schwach saurem Medium arbeitet (pH zwischen 4 und 5), wie dies für die Bestimmung der anorganischen Phosphorsäure in Gegenwart von Estern vorgeschrieben ist, kann sich bei Gegenwart von löslicher Kieselsäure auch ein wenig Silicomolybdänsäure bilden, die dann zum Silicomolybdänblau reduziert wird. Um diese Störung auszuschalten, kann man die verschiedene Beständigkeit der beiden Heteropolysäuren gegenüber Schwefelsäure benutzen⁷.

Wenn sich einmal — in der Kälte und in den ersten Minuten — das Phosphormolybdänblau (noch nicht „stabilisiert“) gebildet hat und wenn zu befürchten ist, daß sich auch Silicomolybdänblau gebildet haben könnte, bestimmt man in einem Teil nach vorherigem Ansäuern mit 17 ml 8-n Schwefelsäure in der Wärme die stabilisierte Farbe durch eine photometrische Messung und erhält die Summe $\text{P}_2\text{O}_5 + \text{SiO}_2$. In einem zweiten Teil der Lösung, der mit der gleichen Menge 8-n H_2SO_4 angesäuert wurde, werden das Phosphormolybdänblau und das Silicomolybdänblau mit Permanganat oxydiert und so die Heteropolysäuren zurückgebildet. Die Phosphormolybdänsäure wird dabei zerstört, die Silicomolybdänsäure bleibt bestehen. Setzt man sofort neuerdings das Reduktionsmittel zu und erwärmt, so erzielt man die Bildung und Stabilisierung nur des Silicomolybdänblaus in derselben Menge wie in der Summenbestimmung. Die Differenz der beiden Werte stellt die Menge der vorhandenen anorganischen Phosphorsäure dar.

Damit ist die Möglichkeit gegeben, nicht nur kleinste Mengen Phosphorsäure in Gegenwart von Phosphorsäureestern zu bestimmen, sondern auch in Gegenwart löslicher Kieselsäure, auch wenn diese in sehr großem Überschuß vorhanden ist*.

* Die in diesem Falle zu befolgende Arbeitsvorschrift wird in Teil II angegeben, wenn die Arbeitstechnik, die sich auf die neuen Erkenntnisse über die Molybdänblau-Kolorimetrie stützt, auf einen praktischen Fall angewendet wird, dem in der Agrarchemie eine besondere Bedeutung zukommt, nämlich auf die Bestimmung der leichter löslichen Bodenphosphate.

Das bei geringer Acidität (pH = 4 bis 5) erhaltene Molybdänblau (siehe die Bestimmung des anorganischen Phosphors in Gegenwart von Phosphorsäureestern) hat die besondere Eigenschaft⁸, praktisch nicht von Filtrierpapier absorbiert zu werden. Daher kann man die Molybdänblaulösung durch gutes phosphorsäurefreies Filtrierpapier filtrieren und so optisch leere Lösungen der Kolorimetrierung zuführen. Nach der Filtration wird mit der vorgeschriebenen Menge Schwefelsäure angesäuert und zur „Stabilisierung“ der Farbe erwärmt.

Ist dagegen die Lösung stark sauer (pH unter 1), so wird das Phosphormolybdänblau sehr stark vom Filterpapier absorbiert. Das Silicomolybdänblau zeigt analoges Verhalten.

Es konnte auch festgestellt werden⁸, daß weder das Phosphor- noch das Silicomolybdänblau bei geringer Acidität (pH = 4 bis 5) von Bodenproben absorbiert werden, während dies bei pH-Werten unter 1 in beach-

lichem Maße der Fall ist.

II. Die Bestimmung der leichtest löslichen Bodenphosphate.

Die im vorstehenden wiedergegebenen Erkenntnisse führten zu einem neuen und originellen Verfahren⁹ zur Bestimmung der leichtest löslichen Bodenphosphate. Dieses unterscheidet sich von zahlreichen anderen Methoden zur Bestimmung der „assimilierbaren“ Phosphorsäure durch die Tatsache, daß die Bildung des Phosphormolybdänblaus — auf der ja die Bestimmung von Spuren von P_2O_5 beruht — nicht in einem Bodenextrakt, sondern in Gegenwart der Bodenprobe selbst vorgenommen wird. Dies geschieht in der Absicht zu verhüten, daß sich Gleichgewichte zwischen den in Lösung befindlichen Phosphationen und den Phosphaten des Bodenkörpers, in welcher Form immer sie vorliegen mögen, ausbilden.

Das Verfahren gestattet, in einer einzigen Operation den gesamten in einer bestimmten Zeit unter gewählten Bedingungen in Lösung gehenden Phosphor zu bestimmen.

Die Ausbildung von Gleichgewichten zwischen den Phosphationen in Lösung und den durch Absorption und Wiederausfällung im Bodenkörper zurückgehaltenen Phosphaten stellt gerade den Gegensatz zu dem physiologischen Verhältnis zwischen Pflanze und Boden dar. Diese Ausbildung von Gleichgewichten ist die Ursache bedeutender Unsicherheiten bei der Analyse und sie beschränkt zugleich die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse, wie sie durch alle jene Methoden erhalten werden, die eben diese Gleichgewichte hervorrufen, indem sie die Bestimmung des Phosphors in einem von der Probe abgetrennten Auszug vorschreiben.

Wir sind der Meinung, daß das neue Verfahren imstande ist, diesen Fragenkomplex zu lösen, indem die Phosphormolybdänsäure in Gegenwart der Bodenprobe gebildet wird, und zwar in dem Maße, als die Phosphate nach und nach in Lösung gehen; sie werden sofort und irreversibel Gleichgewichten jeder Art durch die Bildung der betreffenden Heteropolysäure entzogen.

Es scheint uns erlaubt, diese irreversible Entfernung der Phosphationen wenigstens ihrer Wirkung nach mit jener zu vergleichen, die durch die Pflanzenwurzeln hervorgerufen wird¹⁰. Die auf diesem Wege bestimmte Menge von P_2O_5 sollte jene Menge löslicher Phosphate darstellen, die den Pflanzenwurzeln zur Verfügung steht. Dieser Wert muß sich viel besser der Wirklichkeit anpassen, als es die Resultate der bisher verwendeten Methoden zur Bestimmung der Phosphatfruchtbarkeit der Böden imstande sind. Alle diese Methoden gestatten nur, den Anteil der löslichen Phosphate zu bestimmen, der dem sich zwischen der Lösung und der Bodenprobe ausbildenden Gleichgewichte unter den Versuchsbedingungen entspricht.

Wir sind der Meinung, daß diese neue Methode zur Bestimmung der leichtest löslichen Phosphate besser zu dem Ziele führt, die Phosphatfruchtbarkeit der Böden bewerten zu können, besonders wenn diese Methode durch Feldversuche die notwendige Eichung erfährt. Es erscheint also nicht abwegig, den durch diese Methode bestimmten leichtest löslichen Phosphor als „verfügbaren“ oder „assimilierbaren“ zu bezeichnen und so die bereits in Gebrauch befindliche Terminologie zu benutzen.

Da der Vorgang, auf dem die neue Methode¹¹ beruht, bei einem pH zwischen 4,0 und 5,0 durchgeführt werden muß, wird die Lösung auf ein $pH = 4,8$ abgepuffert. Dies ist derselbe Wert, den auch *Morgan* bei seiner Methode anwendet und den auch andere Autoren als den günstigsten bezeichnen.

Es konnte jedoch festgestellt werden, daß zwar die einfache Pufferung am Anfang genügt, um auch geringe pH -Änderungen des Materials bei Verwendung von sauren und schwach sauren Böden zu verhindern, wenn die an anderen Orten¹² beschriebenen Versuchsbedingungen eingehalten werden. Diese Pufferung genügt aber nicht, um die Reaktion bei einem bestimmten pH (4, 8) ablaufen zu lassen, wenn man es mit deutlich sauren Böden zu tun hat oder aber mit solchen, die „aktiven“ Kalkstein auch in bescheidenen Mengen enthalten. Um nicht die Löslichkeit der im Boden enthaltenen Phosphate zu beeinflussen, muß das pH während der ganzen Reaktionszeit konstant gehalten werden. Wenn die

Methode für jede Bodenart geeignet sein soll, müssen die Reaktionsbedingungen unter allen Umständen streng konstant gehalten werden. Andererseits scheint es logisch, eine solche Konstanz des pH — abgesehen von seinem Absolutwert — auch unter natürlichen Bedingungen anzunehmen, besonders wenn der Boden mit einem ausgesprochenen Pufferungsvermögen ausgestattet ist.

Um die pH-Konstanz zu gewährleisten, werden der acetathaltigen Lösung je nach Bedarf Eisessig oder gesättigte Na-Acetalösung zugesetzt. Die Verwendung von Mineralsäuren ist ausgeschlossen, weil diese unvermeidlich zu plötzlichem, wenn auch kurzem Absinken des pH-Wertes der Lösung und damit zu einer Veränderung der Löslichkeit der Bodenphosphate führen würden. Das Verhältnis Bodenprobe : Lösung wurde mit 1 : 50 als günstig befunden⁹. Die Temperatur wurde auf 22° C konstant gehalten und ein sicherer Kontakt zwischen Bodenprobe und Reagenslösung mittels eines durch die Suspension perlenden Gasstromes hergestellt. Um die Methode zu Serienanalysen verwenden zu können, ist es ausreichend, von jeder Probe nur eine Analyse auszuführen, die nur eine halbe Stunde dauert, und nur in Sonderfällen die in verschiedenen Zeiten sich lösenden Phosphatmengen zu bestimmen, wie dies zur Bestimmung der Lösungsgeschwindigkeit der Phosphate vorgeschlagen worden war⁹.

Die neue Methode eignet sich, um nicht nur den in Lösung gehenden „mineralischen“ Phosphor (als Phosphation), der unmittelbar von der Pflanze ausgenutzt werden kann, leicht zu bestimmen, sondern auch um die Menge des in „organischer“ Form vorliegenden Phosphors festzulegen. Dieser wird aus der Differenz zwischen dem „gesamten in Lösung gegangenen“ Phosphor, nach Zerstörung der organischen Komponente, und dem „mineralischen“ Phosphors berechnet.

Die genaue Kenntnis der vorhandenen Menge an „organischem“ Phosphor hat ohne Zweifel eine große Bedeutung für die Beurteilung der Phosphatfruchtbarkeit der Böden. Nach unserer Meinung muß der lösliche organische Phosphor als für die Pflanzen praktisch verfügbar betrachtet werden. Es ist anzunehmen, daß die Phosphorsäureester in kurzer Zeit hydrolisieren. Die weniger beständigen können während der Reaktionsdauer verseift werden, auch weil das Molybdat die Hydrolyse der organischen Phosphate katalysiert¹³.

Andererseits muß hervorgehoben werden, daß die Bestimmung des „gesamten in Lösung gegangenen“ Phosphors zusammen mit der Bestimmung des „mineralischen“ Phosphors, wenn in allen Proben ausgeführt, eine besonders bei Serienanalysen sehr nützliche Kontrolle darstellt, die sonst fehlen würde.

Wir weisen nochmals ganz besonders auf die Reproduzierbarkeit der mit der neuen Methode erhaltenen Resultate hin, wie sie leicht erhalten werden kann, wenn alle Versuchsbedingungen konstant gehalten werden. Diese sind: das Verhältnis Bodenprobe : Reagenslösung, Dauer der Reaktion, pH, Temperatur usw. Diese für die Praxis so wichtige Reproduzierbarkeit fehlt vielen der bisher veröffentlichten Methoden und ganz besonders jenen, die sehr milde Extraktionsmittel anwenden¹⁴.

Die Methode wurde in der beschriebenen Form bereits einer praktischen Prüfung von beachtenswertem Ausmaß unterzogen. Sie wurde seit zwei Jahren mit zufriedenstellendem Ergebnis zur Bestimmung des löslichen Phosphors in vielen Tausenden von Bodenproben aus allen Zuckerrübengebieten Italiens herangezogen¹⁵, wobei 60 bis 70 Bestimmungen pro Tag ausgeführt wurden. Die beschriebene Methode ist heute in Italien diejenige, die zur Beurteilung der Phosphatfruchtbarkeit der Böden am meisten angewandt wird.

Beschreibung der Methode.

Es werden die folgenden Reagenzien benötigt, die für Phosphor und Arsen eine vollkommen negative Blindprobe aufweisen müssen, während eine ganz schwach positive Reaktion für Silicium zugelassen ist.

1. 0,4-m-Natriumacetat/Essigsäurepuffer von pH = 4,8: 240 ml 1-m-Natriumacetat + 160 ml 1-m-Essigsäure werden mit Wasser auf 1 l verdünnt;

2. *Ammoniummolybdatlösung*; 1,44%ig: 1 ml dieser Lösung soll soviel Ammoniummolybdat enthalten, als 12 mg Molybdänsäureanhydrid entspricht²;

3. *8-n-Schwefelsäurelösung*;

4. *Ascorbinsäurelösung*; 2,5%ig, frischbereitet;

5. *Kaliumpermanganatlösung*, ungefähr 1-n;

6. *Eisessig*;

7. *Natriumacetatlösung*, gesättigt;

8. *Gooch-Tiegelasbest*, gewaschen und kalziniert.

a) Herstellung der Analysenlösung.

Die Reaktion wird in Kelchgläsern an Stelle der beschriebenen⁹ Gefäße durchgeführt, was die wiederholte pH-Kontrolle sehr erleichtert. Die Kelche werden in ein Wasserbad eingestellt, dessen Temperatur durch einen Thermostaten auf $22^{\circ} \pm 1^{\circ}\text{C}$ gehalten wird. Von Zeit zu Zeit wird das pH mit einem Potentiometer gemessen (z. B. dem Potentiometer, Modell G, von Beckman mit Außenelektroden) und wenn nötig durch Zusatz von Eisessig oder von Natriumacetatlösung auf den Wert 4,8 eingestellt. Hat man Proben von sehr saurem Boden vorliegen, so ist es vorteilhaft, einige Tropfen einer konz. Natronlauge zuzusetzen, um eine übermäßige Verdünnung zu vermeiden.

Man geht wie folgt vor: man stellt das Bad auf 22° ein und gießt in einen Meßzylinder 50 ml der Pufferlösung, 20 ml der Ammonium-Molybdat-Lösung und füllt mit Wasser auf 91 ml auf. Diese Lösung wird in ein Kelchglas der hohen Form von 250 ml Inhalt gegossen und das Glas in das Wasserbad gestellt. Man taucht nun ein Glasrohr, dessen Ende auf eine Öffnung von 1 bis 1,5 mm ausgezogen ist, so in den Kelch, daß die Spitze 2 bis 3 mm vom Boden entfernt ist. Aus einer Kohlensäurebombe läßt man nun einen lebhaften Gasstrom durch die Flüssigkeit streichen und setzt 2 g der feinen Bodenprobe zu. Man stellt auf $\text{pH} = 4,8$ ein, indem man in kurzen Abständen je nachdem einige Tropfen Eisessig oder gesättigte Natriumacetatlösung zusetzt. Genau fünf Minuten nach Zusatz der Bodenprobe werden 8 ml der Ascorbinsäurelösung, die frisch bereitet sein muß, zugesetzt. Das Gesamtvolumen beträgt jetzt 100 ml (± 1), und das Verhältnis Bodenprobe : Reagenslösung ist 1 : 50.

Das pH muß von Zeit zu Zeit kontrolliert und, wenn nötig, durch Zusatz von Eisessig oder konz. Natriumacetatlösung für die ganze Dauer der Reaktion konstant gehalten werden. Die gesamte Reaktionszeit beträgt vom Zeitpunkt des Zusatzes der Ascorbinsäurelösung 35 Minuten. da der irreversible Entzug der Phosphationen beginnt, sobald die Bodenprobe mit der Reagenslösung zusammengebracht wird.

Die durchgeleitete Kohlensäure gewährleistet einen guten Kontakt zwischen Bodenprobe und Reagenslösung, die durch den Gasstrom in dauernder lebhafter Bewegung gehalten wird. Überdies schützt die Kohlensäure die Ascorbinsäure vor dem Sauerstoff der Luft, gegen den sie bei $\text{pH} = 4,8$ sehr empfindlich wäre.

Nach 30 Minuten saugt man durch einen Büchnertrichter von 10 cm Durchmesser unter Verwendung eines Filters (Schleicher und Schüll Nr. 589², Weißband) ab. Auf dieses Filterpapier wird vor der Verwendung eine dünne Schicht Gooch-Tiegelasbest festgesaugt. Bequemer ist die Verwendung einer Glasfrittennutsche (Jena G1), deren Sinterplatte ebenfalls vor der Verwendung mit einer dünnen Asbestschicht (1 bis 2 g) versehen wird. Die Filtration muß in 1 bis 2 Minuten vollendet sein. Sollte sie länger dauern, so ist es zweckmäßig, die ganze Bestimmung zu wiederholen und nach dem Zusatz der Ascorbinsäure ungefähr 1 g Asbest zur Bodensuspension hinzuzufügen. Das Filtrat selbst muß vollständig klar sein.

b) Die Technik der verschiedenen Bestimmungen.

1. Die Bestimmung des „mineralischen Phosphors“.

Im Filtrat werden gesondert die Summe $\text{P}_2\text{O}_5 + \text{SiO}_2$ und SiO_2 allein bestimmt. Letzteres muß von der Summe abgezogen werden, um den Gehalt an mineralischer Phosphorsäure zu erhalten.

Vom klaren Filtrat werden zweimal je 25 ml in zwei 250-ml-Erlen-

meyerkolben pipettiert und 50 ml Wasser zugesetzt. Man läßt bis genau 5 Minuten nach der Filtration stehen, um demjenigen Anteil der Phosphormolybdänsäure, der sich in den letzten Augenblicken des Kontaktes zwischen Bodenprobe und Reagenslösung gebildet hat, die vollständige Reduktion zu ermöglichen². Hierauf werden, möglichst gleichzeitig, je 17 ml 8-n Schwefelsäure unter sorgfältigem Schütteln zu beiden Proben hinzugefügt. Durch diese Maßnahme wird die weitere Bildung sowohl von Phosphor- als auch von Silico-Molybdänsäure unterbrochen⁴.

Eine Probe dient zur Bestimmung von $P_2O_5 + SiO_2$. Sie wird für 15 bis 30 Minuten auf ein siedendes Wasserbad gesetzt. Die für die Bestimmung des Siliciumdioxids dienende Probe wird mit Permanganat versetzt, bis eine rotviolette Färbung bestehen bleibt. Hierauf setzt man 2 ml Ascorbinsäurelösung zu und stellt für 15 bis 30 Minuten auf ein siedendes Wasserbad. Nach dem Abkühlen werden beide Proben in einem Meßkolben auf 100 ml aufgefüllt und die photometrische Messung mit einem geeigneten Instrument vorgenommen. Praktisch hat man nur die Extinktion der beiden Lösungen voneinander abzuziehen, um die Extinktion des Phosphormolybdänblaus allein zu erhalten. Aus diesem Wert ergibt sich¹⁶ die Konzentration der „mineralischen Phosphorsäure“ in der Probe. Es ist vorteilhaft, das Ergebnis in Teilen pro Million, d. h. in mg P_2O_5 /kg Boden, auszudrücken.

2. Bestimmung des „gesamten in Lösung gegangenen Phosphors“.

25 ml des unter a) erhaltenen klaren Filtrates werden in einen 100-ml-Kjeldahlkolben gebracht. Man setzt 6 ml 8-n Schwefelsäure, 0,1 bis 0,2 g Kaliumperchlorat und einige Glaskugeln zur Vermeidung des Siedeverzuges hinzu. Wenn die Bodenprobe reich an organischer Substanz ist, ist die Menge des Perchlorates zu erhöhen. Man läßt über freier Flamme kochen bis zur Bildung weißer Schwefelsäuredämpfe und jedenfalls, bis die Flüssigkeit vollkommen farblos geworden ist, d. h. bis zur Zerstörung der organischen Substanz. Man läßt abkühlen, verdünnt mit 80 bis 85 ml Wasser und setzt 2 ml Ascorbinsäurelösung zu. Man stellt nun den Kolben für 30 Minuten auf das siedende Wasserbad, läßt abkühlen und füllt im Meßkolben auf 100 ml auf. Eine eventuelle Trübung, die von Calciumsulfat herrührt, stört nicht, da sie sich sehr leicht absetzt. Die überstehende klare Flüssigkeit wird wie oben beschrieben weiterverarbeitet. Aus der Extinktion erhält man den Wert für die Konzentration des „gesamten in Lösung gegangenen Phosphors“. Wie schon gesagt, gestatten die Bestimmungen 1 und 2 die Berechnung des vorhandenen „organischen Phosphors“. Er ist die Differenz zwischen dem „gesamten in Lösung gegangenen Phosphor“ und dem „mineralischen Phosphor“.

Die nach dieser Methode erhaltenen Blaufärbungen sind überaus beständig. Sie können auch viele Stunden nach der Herstellung photometriert werden. Dies ist nicht nur ein großer Vorteil bei der Durchführung von Serienanalysen, sondern die Messung kann auch zu Kontrollzwecken nach einem gewissen Zeitraum wiederholt werden.

Zusammenfassung.

Die Ergebnisse der Untersuchungen des Verfassers über die Natur der Phosphor- und Silicomolybdänsäure und ihre blauen Reduktionsprodukte werden dargelegt. Diese bilden die Grundlage für die Mikrobestimmung des mineralischen Phosphors, allein oder in Gegenwart von Phosphorsäureestern und auch von Kieselsäure niedrigen Molekulargewichtes (sogenannte „lösliche Kieselsäure“). Eine neue chemische Methode zur Bestimmung der leichtest löslichen Phosphate in Böden zum Zwecke der Bewertung der Phosphatfruchtbarkeit wird beschrieben. Diese fußt auf der neuerdings vom Verfasser angegebenen Arbeitsvorschrift. Sie ist dadurch gekennzeichnet, daß die Bildung des Phosphormolybdänblaus nicht in einem Bodenextrakt, sondern in Gegenwart der Bodenprobe selbst vorgenommen wird, und zwar zu dem Zwecke, um die Ausbildung von Gleichgewichten zwischen den in Lösung befindlichen Phosphationen und den in welcher Form immer vom Boden zurückgehaltenen Phosphationen und die von diesen Gleichgewichten herrührenden

Nachteile zu vermeiden.

Die beschriebene Methode wurde bereits zur Serienanalyse von einigen Tausenden von Bodenproben herangezogen. Sie ist die gegenwärtig meist-verwendete Methode zur Bewertung der Phosphatfruchtbarkeit der Böden in Italien.

Literatur.

- ¹ G. Denigès, Mikrochem., Pregl-Festschrift, 27 (1929).
- ² C. Ferrari, Gazz. chim. ital. **81**, 795 (1951).
- ³ C. Ferrari, Memorie accademia scienze istituto, Bologna [9] **4**, 63 (1936/37).
- ⁴ C. Ferrari, Ann. sperimentazione agraria, nuova serie, **7**, 477 (1953).
- ⁵ C. Ferrari, Mikrochem. **36/37**, 585 (1951).
- ⁶ C. Ferrari, Gazz. chim. ital. **81**, 692 (1951).
- ⁷ C. Ferrari e P. Lugo, Ann. sperimentazione agraria, nuova serie, **7**, 369 (1953).
- ⁸ C. Ferrari, Ann. sperimentazione agraria, nuova serie, **7**, 517 (1953).
- ⁹ C. Ferrari, Trans. Joint Meeting Commissions II and IV of the Intern. Soc. of Soil Science, Dublin **2**, 99 (1952).
- ¹⁰ H. Burström, The Mechanism of Ion Absorption, in "Mineral Nutrition of Plants", edited by Emil Truog, The University of Wisconsin Press, 1953, p. 251.
- ¹¹ C. Ferrari e P. Lugo, Rend. accad. scienze istituto, Bologna, serie XI, Tomo II, Fascicolo I, **34** (1954-55).
- ¹² G. Sandri, P. Coraducci e P. Lugo, Trans. Joint Meeting Commissions II and IV of the Intern. Soc. of Soil Science, Dublin **2**, 103 (1952).
- ¹³ H. Weil-Malherbe e R. H. Green, Biochemic. J. **49**, 286 (1951).
- ¹⁴ R. Herrmann, Methodenbuch, Band I - Untersuchung von Böden. Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungsanstalten. Berlin: J. Neumann. 1941. S. 134.
- ¹⁵ O. Spettoli, L'Industria Saccarifera Italiana, Anno XLVII, n. 5-6, 175 (1954).
- ¹⁶ C. Ferrari, Analisi microchimiche colorimetriche. Bologna: Cesare Zuffi. 1947.

Institut für Medizinische Zellforschung und Genetik, Medizinisches Nobel-
institut, Karolinska Institutet, Stockholm, Schweden.

Bestimmung von Absorption und Brechungsindex extrem hochabsorbierender Lösungen im Mikromaßstab.

Von

Gunnar Svensson.

Mit 1 Abbildung.

(Eingelangt am 31. Mai 1955.)

Bei jeder quantitativen Analyse, die mit Hilfe von spektrographischen Methoden durchgeführt wird, müssen die optischen Eigenschaften der zu untersuchenden Substanzen bekannt sein. So genügt es z. B. nicht, den Extinktionskoeffizienten (ϵ) zu kennen, es muß außerdem festgestellt werden, ob das *Lambert-Beersche* Gesetz gilt.

$$I = I_0 10^{-\epsilon \cdot c \cdot t} \quad (1)$$

I_0 = einfallendes Licht,
 I = durchfallendes Licht,
 c = Konzentration,
 t = Schichtdicke.

Es gilt also, die Absorption für eine Anzahl verschiedener Konzentrationen und variierender Schichtdicken zu bestimmen. Die Küvette muß folgende Bedingungen erfüllen:

1. Die Schichtdicke der Lösung soll jeweils leicht in ein passendes Verhältnis zur Absorption gebracht werden können, so daß die Messung mit ausreichender Genauigkeit ausführbar ist. Man kann entweder mit mehreren Küvetten verschiedener Schichtdicken oder einer Küvette mit variierbarer Dicke arbeiten.
2. Die für die Messung notwendige Schichtdicke soll leicht und genau bestimmt werden können.
3. Die Küvette soll ohne Schwierigkeiten gefüllt werden können.
4. Die Küvette soll leicht zu reinigen sein.

Alle diese Forderungen sind ohne Mühe zu erfüllen, wenn die Absorption der Lösungen so niedrig ist, daß man mit Millimeterküvetten im Makromaßstab arbeiten kann. Dagegen entstehen Schwierigkeiten, wenn die Absorption so hoch ist, daß die Schichtdicke auf wenige μ beschränkt werden muß. In biologischem Material kommen Stoffe in Konzentrationen von 20 bis 30% vor, die innerhalb gewisser Wellenlängen bei Schichtdicken von nur 10 μ Absorptionen von 99% ergeben können. Um die Gültigkeit des *Lambert-Beerschen* Gesetzes unter diesen Verhältnissen im Modellversuch prüfen zu können, sind Küvetten mit einer Flüssigkeitsschicht weit unter 10 μ erforderlich. Die Herstellung solcher Küvetten kann erhebliche Schwierigkeiten bereiten.

Eine Küvette, welche die gestellten Forderungen für Schichtdicken dieser Größenordnung erfüllt, ist in Fig. 1 dargestellt. Die Küvette besteht aus einer planparallelen Platte (aus Glas oder Quarz), auf der eine plankonvexe Linse mit der konvexen Seite zur Platte liegt. In den Raum zwischen Linse und Platte wird die zu untersuchende Lösung gebracht. Diese „*Linseküvette*“ erfüllt die oben genannten Bedingungen.

Die Schichtdicke steigt von Null (im Kontaktpunkt zwischen Linse und Platte) aufwärts, man kann darum einen Ort mit geeigneter Transmission auswählen.

Die Lösung ist leicht anzubringen (auch wenn sie hoch viskos sein sollte), und die Küvette läßt sich ohne Schwierigkeit reinigen, da die

Linse lose auf der planen Platte liegen kann.

Weil die Schichtdicke variiert, muß die Absorption einer sehr kleinen Meßfläche bestimmt werden, da sonst die Schichtdicke im Meßpunkt nicht exakt definiert werden kann. Ein Mikroskop projiziert das Bild des Meßobjektes über eine Blende vor eine Photozelle. Die Blende schneidet einen Bildteil aus, der einer sehr kleinen Meßfläche von wenigen μ^2 entspricht. Die Schichtdicke t im Meßpunkt wird aus dessen Abstand x zur optischen Achse der Linse bestimmt.

$$x^2 = t(2R - t) \quad (2)$$

R = Krümmungsradius der Linse.

Wenn aber $t \ll R$ ist, gilt:

$$t = \frac{x^2}{2R} \quad (3)$$

Aus Formel 3 ist zu ersehen, daß sich t und damit auch die Transmission nur sehr langsam mit x in unmittelbarer Nähe der optischen Achse ändert. Darum kann die Lage der optischen Achse nicht durch Aufsuchen maximaler Durchlässigkeit ausreichend genau bestimmt werden. Man muß einen Umweg wählen. Entweder:

I. Im ersten Fall wird der Objektisch mit der Meßanordnung mittels einer Mikrometerschraube verschoben. Die Intensität des durchgelassenen Lichtes wird in mehreren Punkten längs einer Linie durch die optische Achse gemessen. Wenn z. B. die Lichttransmission die Werte $I_0, I_1, I_2, \dots$ hat und der Abstand von der optischen Achse $x_0, x_1, x_2, \dots$ ist, können $x_1, x_2, \dots$ direkt an der Mikrometerschraube abgelesen werden, während x_0 unter Annahme der Gültigkeit des *Lambertschen* Gesetzes errechnet werden kann. Damit kann der Extinktionskoeffizient ϵ bestimmt werden.

$$\epsilon = e/t \cdot c, \quad (4)$$

wobei

$$e = {}^{10}\log(I_0/I) \text{ ist.}$$

II. Eine andere genauere Methode ist die Bestimmung der ganzen Transmissionskurve für eine Linie durch die optische Achse und nicht nur weniger Punkte. Dabei wird der Objektisch mit der Linsenküvette synchron mit dem Papier eines XY-Schreibers bewegt, der direkt die Transmissionskurve registriert. Der Objektisch mit Bewegungseinrichtung ist speziell für diesen Zweck konstruiert und gehört als Zusatzanordnung zum Universalultramikrospektrophotometer, das an unserem Institut gebaut wurde^{1,2}. Der Objektisch wird von zwei parallelen vertikalen Stahlblatfedern getragen und mittels einer Mikrometerschraube bewegt, die von einem reversiblen Motor über ein System von Selsyn-Motoren getrieben wird.

Die so erhaltene Transmissionskurve, die symmetrisch zur optischen Achse ist, wird dann zur Bestimmung der Schichtdicke in verschiedenen Punkten angewendet:

$$t = a^2/8R$$

wobei $a = 2x$ ist (Formel 3). Die entsprechenden e -Werte ($= {}^{10}\log I_0/I$) werden berechnet, wobei I_0 ein beliebiger Wert ist. e soll als Funktion von t auf einer Geraden liegen, wenn *Lamberts* Gesetz gültig ist. Die Neigung dieser Linie entspricht $\epsilon \cdot c = E$. Hieraus geht hervor, daß es bedeutungslos ist, ob die Linse mit der planen Platte in ihrer optischen Achse Kontakt hat oder nicht.

Mit dieser zweiten Methode erhält man also automatisch die Kontrolle über die Gültigkeit von *Lamberts* Gesetz, während im ersten Fall seine Gültigkeit nur angenommen wurde. Man kann mit Leichtigkeit E innerhalb eines Näherungsbereiches von 0,01 bis 5 pro μ messen. Bei geeigneter Linsenwahl kann dieses Gebiet noch erweitert werden. Die erforderliche Substanzmenge beruht auf der relativen Absorptionshöhe: höhere Absorption, geringere Substanzmenge. Für $E = 0,01$ pro μ und $R = 100$ mm ist eine Substanzmenge von 0,1 bis 1 μ l ausreichend und für $E = 0,1$ pro μ 0,01 bis 0,1 μ l.

Die Streuung in E war durchgehend geringer als $\pm 0,5\%$ bei wieder-

holten Messungen einer Substanz in einer bestimmten Wellenlänge. In allen Fällen wurden die Messungen im U. V. ($\lambda = 2500$ bis $3200 \text{ \AA}$) durchgeführt.

Die oben beschriebene Methode kann mit einer geringen Modifikation ebenfalls für die Bestimmung des Brechungsindex von Lösungen benutzt werden. Hierfür werden die Interferenzen, die in der dünnen Schicht der Linsenküvette entstehen (die bekannten *Newtonschen Ringe*) ausgenutzt. Wenn x der Radius im p . Ring ist und λ die Wellenlänge des verwendeten Lichtes, ergibt sich:

$$p \cdot \lambda = n \cdot x^2 / R + C$$

n = Brechungsindex

R = Krümmungsradius der Linse.

Die Konstante C braucht nicht bestimmt zu werden, da sich p in bezug auf x^2 linear verhält. Die Messung der Radien mehrerer Ringe ergibt also Werte für den Brechungsindex n in der betreffenden Wellenlänge. Diese Messung kann wie bei den Absorptionsbestimmungen auf zwei Arten ausgeführt werden:

I. Manuell und visuell mit einem Mikroskop, wobei die Lage der Ringe mittels eines Fadenkreuzes im Okular festgelegt und die Messung mit der Mikrometerschraube des Objektisches durchgeführt wird.

II. Registrierend im Mikrospektrographen, wo die Transmissionskurve von *Newtonschen Ringen* überlagert ist, deren Radien auf dem Kurvenpapier aufgetragen werden. Bei den beschriebenen Absorptionsmessungen traten jedoch keine *Newtonschen Ringe* auf, weil die Reflexion in den Grenzflächen zwischen Küvette und Flüssigkeit unzureichend ist. Die Reflexion muß durch Silber- oder Aluminiumaufdampfung verbessert werden.

Die Genauigkeit für jede Messung von n war mit der registrierenden Methode besser als $\pm 0,005$, ausgenommen bei Messung von Lösungen mit zu hoher Absorption ($E > 1$). Je höher die Absorption ist, desto weniger Ringe werden sichtbar und daher werden die Messungen unsicherer. Folglich ist die Methode für Lösungen mit den höchsten Absorptionen ($E > 1$) nicht geeignet. Dagegen ist die innerhalb eines unbegrenzten Gebietes für die Bestimmung des Brechungsindex anwendbar. Außerdem ist der anwendbare Wellenlängenbereich relativ breit: ultraviolettes und sichtbares Licht. Besonders wertvoll ist die Möglichkeit, im U. V. messen zu können. Die notwendige Substanzmenge übersteigt in keinem Fall $0,01 \mu\text{l}$.

Zusammenfassung.

Eine Methode für die Messung der Absorption in extrem hochabsorbierenden Lösungen wird beschrieben. Die Küvette besteht aus einer plankonvexen Linse auf einer ebenen Platte. Die Messungen können entweder Punkt für Punkt in einem Mikroskop oder durch Registrierung, z. B. im Mikrospektrophotometer dieses Institutes, ausgeführt werden. Es kann sowohl im UV wie im sichtbaren Licht gemessen werden. Die Dichte kann innerhalb eines Bereiches von ca. $0,01$ bis 5 per μ bestimmt werden. Die Genauigkeit ist besser als $\pm 1\%$ und die Substanzmenge kann kleiner als $0,1 \mu\text{l}$ sein.

Der Brechungsindex der Lösungen wird mit Hilfe der *Newtonschen Ringe* bestimmt, die in der Linsenküvette sichtbar sind, falls diese aluminisiert oder versilbert ist. Die Durchmesser der Ringe werden entweder manuell in einem Mikroskop oder durch Registrierung im Mikrospektrophotometer gemessen. Es kann sowohl im UV wie im sichtbaren Licht gemessen werden. Die Genauigkeit des Brechungsindex ist besser als $0,005$ und die notwendige Substanzmenge kleiner als $0,01 \mu\text{l}$.

Summary.

A method is described for measuring the absorption and refractive index of extremely highly absorbing solutions. A cuvette consisting of a plane-convex lens on a plane plate is used. Measurements of absorption can be carried out either point by point in a microscope or by continuous recording in e. g. the microspectrophotometer of this Institute. Measurements can be made in ultraviolet as well as in visible light. It is possible to determine

the extinction within an approximate range of 0.01 to per micron. The accuracy is better than $\pm 1\%$ and the amount of substance to be examined can be less than $0.1 \mu\text{l}$.

The refractive index of a solution can be determined from Newton's rings which are visible in the lens-cuvette coated with aluminum or silver. The diameters of the rings are measured either manually in a microscope or by recording in the microspectrophotometer. Measurements can be made in ultraviolet as well as in visible light. The accuracy is better than ± 0.005 and the necessary amount of substance is less than $0.01 \mu\text{l}$.

Literatur.

¹ T. Caspersson, Exper. 11, 45 (1955).

² T. Caspersson, G. Lomakka, G. Svensson und R. Sjöström, Exp. Cell Research, Suppl. 3, 40 (1955.)

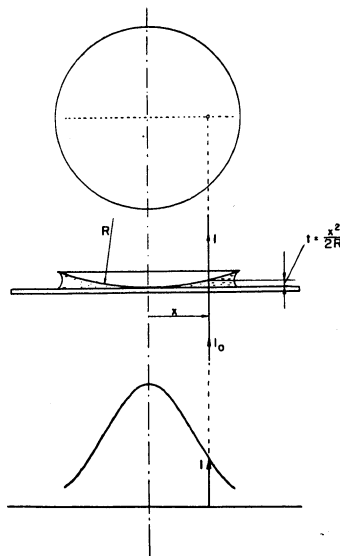


Abb. 1. Eine Linsenkuvette für die Bestimmung der Absorption extrem hochempfindlicher Lösungen.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/82.

Zeilenanzahl: 560.

Aus dem Organisch-analytischen Laboratorium der Farbenfabriken Bayer
A. G., Leverkusen.

Über kristallisierte Anhydrojodsäure als Oxydationsmittel bei der direkten Mikrosauerstoffbestimmung in organischen Substanzen.

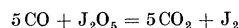
Von

Josef Unterzaucher.

Mit 3 Abbildungen.

(Eingelangt am 31. Mai 1955.)

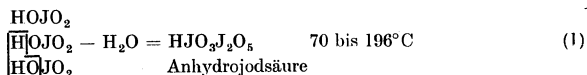
Die Bestimmung des Kohlenoxydes durch Jodtitration nach dem Schema:



ist sehr oft der Gegenstand eingehender Untersuchungen gewesen. Sie erwies sich aber als nur beschränkt anwendbar und galt insbesondere bei Gegenwart von Wasserstoff als unzuverlässig¹. Als Ursachen für die Unstimmigkeiten wurden die Zersetzlichkeit der verwendeten Jodpentoxydpräparate und bei Gegenwart von Wasserstoff dessen Reaktion mit dem Jodpentoxyd unter Jodentwicklung festgestellt. Die Autoren verwendeten Präparate, die durch Entwässerung von Jodsäure oder von käuflichen Jodpentoxydprodukten bei verschiedenen, zwischen 180°² und 240°C^{3,4} liegenden Temperaturen erhalten wurden. Wie weit die Meinungen auseinander gingen, zeigt ferner der Umstand, daß von den verschiedenen Autoren für die Einwirkung des Kohlenoxyds auf das Jodpentoxyd Temperaturen von 60° bis 240°C vorgeschlagen worden sind.

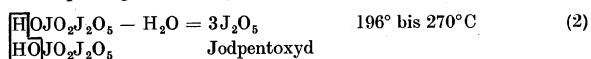
Mittlerweile konnten die Ursachen für das bisherige vielfache Versagen der Kohlenoxydbestimmung durch Jodtitration im Rahmen unserer 1940 beschriebenen Mikrosauerstoffbestimmung⁵ aufgeklärt und beseitigt werden. Im Verlaufe unserer Untersuchungen hat sich als entscheidender Faktor herausgestellt, daß entgegen der bisherigen Auffassung nicht das Jodpentoxyd, sondern die Anhydrojodsäure das geeignete Oxydationsmittel für die jodometrische Kohlenoxydbestimmung darstellt⁶.

Jodsäure geht beim Erhitzen zwischen 70° und 196°C unter Wasseraustritt in Anhydrojodsäure über:



die als ein chemisches Individuum zu betrachten ist⁷.

Bei Temperaturen über 196°C geht die Anhydrojodsäure unter Wasserabspaltung in das Jodpentoxyd über⁸:



Danach haben also jene Autoren, die ihr Jodsäureanhydridpräparat für die jodometrische Kohlenoxydbestimmung bei Temperaturen über 196°C erhitzt haben, tatsächlich mit Jodpentoxyd der Zusammensetzung J_2O_5 gearbeitet.

Die übrigen Autoren dagegen, die ihr Jodsäureanhydridpräparat unter 196°C erhitzt haben, hatten gemäß Schema (1) nicht Jodpentoxyd, sondern Anhydrojodsäure der Zusammensetzung HJ_3O_5 für denselben Zweck in Verwendung.

Daraus ist zu ersehen, daß die jodometrische Kohlenoxydbestimmung den angewandten, zwischen 180° und 240°C liegenden Erhitzungstemperaturen der Jodsäureanhydridpräparate gemäß sowohl mit Jodpentoxyd als auch mit Anhydrojodsäure durchgeführt worden ist. In beiden Fällen war aber bisher lediglich von „Jodpentoxyd“ als dem verwendeten Oxydationsmittel die Rede, ohne daß hierbei auf ein unterschiedliches Verhalten dieser beiden Jodsäureanhydride gegenüber Wasserstoff hingewiesen worden wäre.

In der Praxis verfuhr man daher bis in die jüngste Zeit noch in der Weise, daß man die im Handel erhältlichen Jodpentoxydprodukte einer Vorbehandlung durch Erhitzen unterzog, bevor man sie verwendete.

Während einer Reihe von Jahren hatten auch wir für die Zwecke unserer Mikrosauerstoffbestimmung die handelsüblichen Jodpentoxydprodukte mit der Bezeichnung: Jodsäureanhydrid, gekörnt, zur Rauchgasanalyse, p. a., J_2O_5 in Verwendung. Diese waren meist uneinheitlich rötlich gefärbt, mehr oder weniger verunreinigt und bestanden, wie wir nachträglich feststellten, nicht aus Jodpentoxyd (II), sondern aus einem Gemisch (I) von überwiegend Anhydrojodsäure (III) und Jodsäure (IV) (Abb. 1). Durch Erhitzen dieser käuflichen Produkte bei 180°, wobei neben Wasser auch Jod frei wurde, konnte man im Falle genügender Reinheit Präparate erhalten, die bei der Verwendung keine störende Jodabgabe zeigten und sich als brauchbar erwiesen. Andernfalls mußten die Präparate zwecks Verwendbarkeit für die blindwertfreie Arbeitsweise erst einer entsprechenden Reinigung unterzogen werden. Unsere Reinigungsversuche führten schließlich zu einem Verfahren, wonach wir durch Umkristallisieren der Handelsware farblose und durchsichtige Kristalle erhielten, die in ihrer Zusammensetzung der Anhydrojodsäure HJ_2O_5 entsprachen und sich für unsere Zwecke vorzüglich eigneten. Damit war aber in Übereinstimmung mit den bisher verwendeten, durch Erhitzen der käuflichen Produkte erhaltenen Präparate auch zugleich erwiesen, daß wir für die Zwecke unserer Mikrosauerstoffbestimmung seit jeher nicht Jodpentoxyd, sondern Anhydrojodsäure in Verwendung hatten.

Diese Feststellung war von grundlegender Bedeutung, weil daraus in Verbindung mit den Ergebnissen unserer Mikrosauerstoffbestimmung die Erkenntnis gewonnen wurde, daß die Anhydrojodsäure wohl das Kohlenoxyd unter Freisetzung äquivalenter Jodmengen oxydiert, dagegen aber nicht mit dem aus der thermischen Substanzzersetzung stammenden Wasserstoff unter Jodentwicklung reagiert. Damit hatte sich eindeutig herausgestellt, daß mit der Anhydrojodsäure als Oxydationsmittel die jodometrische Kohlenoxydbestimmung auch bei Gegenwart von Wasserstoff ohne Störung durchführbar ist.

Ganz anders dagegen verhält sich die Sache bei Verwendung von Jodpentoxyd, wie uns dies in überzeugender Weise in einigen Nacharbeiten unserer Methode zur Mikrosauerstoffbestimmung vor Augen geführt wird³. Bei den Versuchen, unsere Methode auf ihre Brauchbarkeit zu prüfen, verwendeten die Autoren durch Erhitzen käuflicher Jodpentoxydprodukte bei 230° bis 240° C hergestelltes Jodpentoxyd, und erhielten damit Sauerstoffwerte, die z. T. um mehrere Prozente zu hoch lagen. Als Ursache hierfür wurde festgestellt, daß der bei der Substanzverkrackung entstehende Wasserstoff mit dem Jodpentoxyd unter Entwicklung von Jod reagiert, wodurch dann die Fehlresultate zustande kamen. Diese für die Nacharbeiter unserer Methode zunächst enttäuschende Erfahrung hatte aber gelehrt, daß Jodpentoxyd für die Endbestimmung bei unserer Mikrosauerstoffbestimmung absolut unbrauchbar ist, und führte zur Entwicklung von vier neuen Modifikationen, wobei der von der Jodpentoxyd-Wasserstoffreaktion herrührende Fehler auf verschiedene Weise ausgeschaltet wird^{3, 4}.

Zur klaren Herausstellung der Sachverhalte sei eine Reihe von Analysen bekannter Substanzen angeführt, die wir unter den Bedingungen unserer Methode einmal mit Anhydrojodsäure, das andere Mal mit Jodpentoxyd als Oxydationsmittel durchgeführt haben (Tabelle 1).

Tabelle 1.

Substanz	% O berechnet	Jodpentoxyd		Anhydrojodsaure	
		% O gefunden	Differenz	% O gefunden	Differenz
Chloranil	13,01 (4 bis 5 mg)	13,31	+0,30	13,13	+0,12
		13,41	+0,40	13,06	+0,05
CaCO ₃	31,97 (für 2 O-Atome)	32,06	+0,09	32,09	+0,12
(3 bis 4 mg)		32,24	+0,27	31,88	-0,09
Benzoesäure	26,21 (4 bis 5 mg)	27,52	+1,31	26,10	-0,11
		28,00	+1,79	26,21	0,00
		27,92	+1,71	26,25	+0,04
Phthalimid	21,75 (4 bis 5 mg)	22,86	+1,11	21,92	+0,17
		23,23	+1,48	21,94	+0,19
Harnstoff	26,64 (4 bis 5 mg)	29,99	+3,35	26,82	+0,18
		29,91	+3,27	26,87	+0,23
m-Nitranilin	23,17 (4 bis 5 mg)	23,55	+0,38	23,22	+0,05
		24,57	+1,40	23,21	+0,04
Acetanilid	11,84 (4 bis 5 mg)	14,38	+2,54	11,96	+0,12
		14,38	+2,54	11,96	+0,12
Carbazol	0,00 (4 mg)	1,37		1 bis 3 Minuten nach Stärkezugabe eben erkennbare Blaufärbung	
		1,71			
Carbazol	0,00 (10 mg)	1,65		0,05	
		1,66		0,04	
Carbazol	0,00 (20 mg)	1,38		0,04	
		1,50		0,03	
Carbazol	0,00 (30 mg)			0,04	
Carbazol	0,00 (40 mg)			0,03	
Carbazol	0,00 (50 mg)			0,025	

Aus den Ergebnissen ist zu ersehen, daß bei Verwendung von Jodpentoxyd selbst im Falle wasserstofffreier Substanzen, wie Kohlendioxyd und Chloranil etwas überhöhte Sauerstoffwerte erhalten werden, obgleich dies nach dem negativen Ausfall des vorausgegangenen Leerversuches nicht zu erwarten wäre. Bei Wasserstoff enthaltenden Substanzen werden durchaus beträchtlich zu hohe Sauerstoffwerte erhalten, und zwar sowohl bei sauerstoffhaltigen Körpern, wie Benzoesäure, Phthalimid, Harnstoff usw., als auch bei sauerstofffreien Substanzen, wie Carbazol. Vergleichen wir dagegen die mit Anhydrojodsaure erhaltenen Sauerstoffwerte mit der Theorie, dann sehen wir, daß diese durchwegs innerhalb der zulässigen Fehlergrenze liegen. Es handelt sich hierbei um die Ergebnisse unmittelbar nacheinander ausgeführter Analysen. Zu den Versuchen mit Carbazol als dem Beispiel einer sauerstofffreien Substanz ist zu bemerken, daß bei normalen Einwaagen von 3 bis 4 mg nahezu die gleichen Effekte beobachtet werden, wie bei den Leerversuchen. Während bei letzteren eine eben erkennbare Blaufärbung der Titrationslösung erst 5 bis 10 Minuten nach der Stärkezugabe eintritt, erfolgt diese bei den ersteren bereits nach 1 bis 3 Minuten. Bei Einwaagen von 10 bis 20 mg Carbazol werden Werte erhalten, die im Durchschnitt 0,04% Sauerstoff entsprechen, während sich mit Einwaagen von 30 bis 50 mg ein Durchschnittswert von 0,032% ergibt. In diesem Zusammenhang sei auf die Versuche hingewiesen, die wir im Jahre 1940 mit besonders gereinigtem Anthracen und Paraffinöl durchgeführt haben, wobei Werte von 0,026% bzw. 0,024% Sauerstoff erhalten wurden⁵. Ob es sich hierbei tatsächlich um Sauerstoff handelt, der möglicherweise von an der Substanzoberfläche haftenden Luft- bzw. Feuchtigkeitsspuren herrührt, ist nicht untersucht worden. Bei der Allgegenwart dieser zwei Faktoren besteht jedoch eine gewisse Wahrscheinlichkeit für eine solche Annahme.

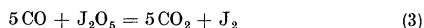
Um das indifferente Verhalten der reinen Anhydrojodsäure gegenüber Wasserstoff, wie es sich aus unserer Praxis darstellt, auch noch von einer zweiten Seite her zu beleuchten, wurden Versuche durchgeführt, wobei 100 ml gereinigter Wasserstoff unter den Bedingungen der Mikrosauerstoffbestimmung durch das Oxydationsrohr geleitet wurden. Bei diesen Versuchen wurden Titrationswerte erhalten, die rd. 7 μg Sauerstoff entsprachen. Demgemäß ergäbe sich bei der Mikrosauerstoffbestimmung (4 mg Einwaage) einer 10% Wasserstoff enthaltenden Substanz durch diesen ein Sauerstoffplus von nur 0,3 μg .

Die Prüfung der kristallisierten Anhydrojodsäure auf ihre Beständigkeit bei der Gebrauchstemperatur von 118° C wurde in der Weise durchgeführt, daß wir 3 Stunden gereinigten Stickstoff unter den Bedingungen unserer Methode durch das Oxydationsrohr leiteten. Hierbei wurden an 3 Oxydationsrohrfüllungen übereinstimmende Titrationswerte von 3,3 ηg Sauerstoff erhalten. Daraus ergibt sich für eine Mikrosauerstoffbestimmung, wobei der Gasdurchgang nur 20 Minuten beträgt, ein Sauerstoffplus von 0,55 μg .

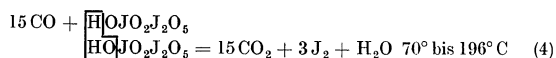
Das Gesamtplus an Sauerstoff, das also auf eine Analyse entfällt, beträgt demnach etwa 0,8 μg und stellt somit einen Wert dar, der noch erheblich unter der Wägegenauigkeit einer normalen Mikrowaage liegt.

Diese Befunde stimmen gut überein mit den Erfahrungen, die wir mit der kristallisierten Anhydrojodsäure gemacht haben, wonach wir bei der Analyse reiner Substanzen ohne Abzug eines Blindwertes vom Resultat korrekte Sauerstoffwerte erhalten.

Was die Reaktion von Kohlenoxyd mit Anhydrojodsäure betrifft, ist zu sagen, daß sie analog der bekannten Jodpentoxydreaktion:



nach dem Schema:



verläuft, wobei neben Kohlendioxyd und Jod auch Wasser gebildet wird. Die Vorgänge nach den Gleichungen (2) und (3) laufen gleichzeitig ab. Während nach Gleichung (2) der Austritt eines Wassermoleküles aus 2 Molekülen Anhydrojodsäure durch den Einfluß der Temperatur oberhalb 196° C erfolgt, vollzieht sich dieser Austritt nach (3) durch die Einwirkung von Kohlenoxyd unterhalb 196° C, wobei die zur Oxydation von 15 Molen Kohlenoxyd erforderlichen 3 Mole Jodpentoxyd gebildet werden. Das Molverhältnis $\text{CO} : \text{J}_2 = 5 : 1$ ist in Übereinstimmung mit der Praxis bei den Reaktionen nach (3) und (4) dasselbe. Das Molverhältnis der Reaktionsprodukte Kohlendioxyd und Wasser wurde durch Wägung festgestellt. Zu diesem Zwecke wurde eine bestimmte Menge Kohlendioxyd — aus einer gewogenen Menge Calciumcarbonat durch Erhitzen entwickelt — durch die Mikrosauerstoffapparatur geleitet und nach den erfolgten Umsetzungen mit Kohle und Anhydrojodsäure das gebildete Kohlendioxyd und Wasser getrennt aufgefangen und gewogen (Tabelle 2).

Tabelle 2.

Reaktionsfolge	900° C				
	$\text{CaCO}_3 \rightarrow \text{CO}_2$	Kohle, 1120° $\rightarrow \text{CO}$	H_2O_2 , 118° $\rightarrow \text{CO}_2$	+ H ₂ O	
Milligramme	39,828	17,512	22,292	35,142	1,000
Molverhältnis	7,5	7,5	15,0	15,05	1,046

Demnach ist das Molverhältnis von $\text{CO}_2 : \text{H}_2\text{O} = 15 : 1$. Daraus ergibt sich in Verbindung mit dem bekannten Molverhältnis $\text{CO} : \text{J}_2 = 5 : 1$ die Bestätigung für die Richtigkeit der angegebenen Reaktionsgleichung (4).

Für den Praktiker ist vor allem die Herstellung reiner Anhydrojodsäure und deren richtige Anwendung von Interesse. Da der Reinheitsgrad für die Stabilität von Bedeutung ist, verwenden wir grundsätzlich nur rein weiß aussehende Präparate, die wir uns durch Umkristallisierung der Handelsprodukte aus starker Salpetersäure selbst herstellen*. Man verfährt hierbei auf folgende Weise:

Von käuflichem Jodpentoxyd (Gemisch von Anhydrojodsäure und Jodsäure) wird in Pulverform soviel in siedende 60%ige Salpetersäure ($60 \text{ g HNO}_3 + 40 \text{ g H}_2\text{O}$) portionsweise eingetragen, daß unter Fortsetzen des Kochens bei etwas ungelöst bleibendem Überschuß eine gesättigte Lösung erhalten wird. Hierbei werden von 1000 ml Salpetersäure etwa 110 g Substanz aufgenommen, wozu etwa 3 Stunden erforderlich sind. Die siedendheiße Lösung, die bei verunreinigtem Ausgangsmaterial milchig trübe erscheint, wird durch ein Glasfilter (Schott 17 G 3) filtriert und im Dunkeln bei Zimmertemperatur der Kristallisation überlassen. Das Filtrat muß vollkommen klar sein. Nach 1 bis 2 Tagen werden die Kristalle von der Mutterlauge abgetrennt und mit 68%iger Salpetersäure gewaschen. Zwecks möglichst vollkommener Entfernung der anhaftenden Salpetersäure werden die Kristalle dann in einem grobporigen Glasfiltertiegel zur Trockene gebracht, indem man etwa 1 Stunde lang einen trockenen Luftstrom durch die Kristallmasse saugt. Zu diesem Zwecke werden dem Glasfiltertiegel 3 Trockentürme vorgeschaltet, von denen die beiden ersten mit Chlorcalcium und der letzte mit Phosphorpentoxyd auf Bimsstein gefüllt sind. Nach dem Luftdurchsaugen erscheinen die Kristalle völlig trocken, besitzen aber noch einen starken Salpetersäuregeruch. Die Entfernung der letzten Salpetersäurespuren läßt man dann in einem Exsikkator über P_2O_5 und Ätzkali im Vakuum vor sich gehen. Nach etwa 8 Tagen, während welcher man das Vakuum häufig erneuert, ist der Salpetersäuregeruch meist verschwunden. Die Trocknung ist als beendet zu betrachten, wenn eine Probe beim längeren Erhitzen auf 120°C unter Durchleiten von Stickstoff das ursprüngliche rein weiße Aussehen unverändert beibehält. Eine leichte Rosatönung macht das Präparat jedoch nicht unbrauchbar. Das fertige Produkt wird in einem Exsikkator über Phosphorpentoxyd und Ätzkali unter Vakuum aufbewahrt, den man zweckmäßig ins Dunkel stellt. So aufbewahrt, zeigen die Kristalle nach Jahren keine Veränderung.

Bei der Herstellung ist darauf zu achten, daß grelles Tageslicht sowie Feuchtigkeit und Staub von den Kristallen ferngehalten werden. Das völlig trockene Produkt ist nicht mehr lichtempfindlich.

Als Ausgangsmaterial kann auch Jodsäure oder Jodpentoxyd verwendet werden. Aus einem Ansatz mit 1000 ml 60%iger Salpetersäure werden etwa 75 g Anhydrojodsäure erhalten. Die Mutterlauge können wieder zum Umkristallisieren verwendet werden, wobei sich die Zugabe von Ausgangsmaterial entsprechend verringert.

Nach dem beschriebenen Verfahren wird die Anhydrojodsäure in kleineren und größeren als der passenden Korngröße entsprechenden Kristallen erhalten. Zur Erzielung einer möglichst gleichgroßen wirksamen Oberfläche im Oxydationsrohr werden jeweils Kristallkörner ein- und derselben Größe verwendet, die von den gröberen und feineren durch zwei Siebe von 100 Maschen/cm² und 400 Maschen/cm² abgetrennt werden. Die feineren Anteile unterwirft man einer neuerlichen Kristallisation, während die gröberen in einem Achatmörser zerkleinert werden, woraus dann wieder die Körner der passenden Größe ausgesiebt werden. Beim Aussieben der ursprünglichen Kristallmasse werden demnach „unzerbrochene“ Kristalle der passenden Korngröße, nach dem Zerkleinern der gröberen Kristalle dagegen „zerbrochene“ Kristalle der passenden Korngröße erhalten. Das bisweilen beobachtete unterschiedliche Verhalten der unversehrten und zerbrochenen Kristalle kommt später noch zur Sprache. Mit dem beim Aussieben erhaltenen Korngut wird das Oxydationsrohr, dessen Abmessungen aus der Abb. 2 ersichtlich sind, dergestalt beschickt, daß der Rohrquerschnitt der ganzen Länge nach vollkommen erfüllt wird, so daß sich in der Horizontallage unter keinen Umständen ein Kanal bilden kann. Dies wird leicht durch seitliches Klopfen des Rohres beim Einfüllen erreicht. Als Abschluß der etwa 30 g Anhydrojodsäure betragenden Füllmenge wird an der Stelle des Rohres, wo das Ansatzröhrchen an den Schliffkonus angeschmolzen ist, ein Quarzwollepfropfen verwendet (siehe Abb. 3). Da bei jeder Analyse Anhydrojodsäure verbraucht wird, kommt es allmählich zu einer Verminderung der Rohrfüllung und hierdurch bedingten Kanalbildung, die als eine Ursache für zu niedrige

Sauerstoffwerte durch Nachfüllen beseitigt werden muß.

Zwecks Ingebrauchnahme wird das frischbeschickte Oxydationsrohr in der Mikrosauerstoffapparatur solange mit dem durchströmenden Stickstoff gespült, bis sich im Leerversuch völlige Blindwertfreiheit ergibt. Dies nimmt etwa 3 bis 4 Stunden in Anspruch, worauf dann 1 oder 2 Testanalysen folgen.

Wurde das frischbeschickte Oxydationsrohr mit zerbrochenen Anhydrojodsäurekristallen beschickt, so erhält man bei diesen Testanalysen sogleich korrekte Sauerstoffwerte, womit die Brauchbarkeit als erwiesen anzusehen ist.

Bei Oxydationsrohren, die mit unzerbrochenen, also unversehrten Kristallen beschickt wurden, ist der Hergang bei der Ingebrauchnahme meist der gleiche; nach einigen Stunden Stickstoffspülens ergibt sich Blindwertfreiheit und Gebrauchsfertigkeit des Rohres. Zuweilen aber kann man mit Oxydationsrohrfüllungen, die aus unversehrten Kristallen bestehen, eine große Überraschung erleben. Diese besteht darin, daß bei den Testanalysen nur geringe Bruchteile des vorhandenen Sauerstoffgehaltes gefunden werden. Diese Erscheinung beschränkter Reaktionsfähigkeit, wofür wir noch keine befriedigende Erklärung haben, ist für unsere Zwecke deshalb völlig belanglos, weil durch mehrtägiges Erhitzen solcher inaktiver Rohrfüllungen bei 150° C die volle Aktivität erreicht wird. Hierbei findet praktisch keine Gewichtsabnahme statt. Die Röntgenbilder zeigen, gleichgültig ob es sich um aktive oder inaktive Kristalle vor oder nach der Erhitzung handelt, alle das Diagramm der Anhydrojodsäure. Erwähnenswert ist noch die Beobachtung, daß inaktive Rohrfüllungen durch Überleiten von Kohlenoxyd, wie wir dies durch eine größere Zahl nacheinander ausgeführter Testanalysen getan haben, allmählich fast vollständig aktiv werden.

In der beschriebenen Weise sind 24 Oxydationsrohrfüllungen aus 8 Partien Anhydrojodsäure geprüft worden. Unter diesen 8 Partien waren nur 3 Partien, deren unversehrte Kristalle bei der Ingebrauchnahme beschränkte Reaktionsfähigkeit zeigten; die der übrigen 5 Partien dagegen erwiesen sich von Anfang an als völlig aktiv. An Oxydationsrohrfüllungen mit zerbrochenen Kristallen sind bisher keinerlei Inaktivitätserscheinungen beobachtet worden.

Zusammenfassung.

Die Kohlenoxydbestimmung durch Jodtitration galt insbesondere bei Gegenwart von Wasserstoff als unzuverlässig. Als Ursachen hierfür wurden Zersetzlichkeit der verwendeten Jodpentoxydprodukte und Reaktion des Wasserstoffes mit dem Jodpentoxyd unter Jodentwicklung angegeben. Entsprechend den Herstellungstemperaturen der Jodpentoxydpräparate, wonach unterhalb 196° C Anhydrojodsäure $\text{HJO}_3\text{J}_2\text{O}_8$, oberhalb 196° C Jodpentoxyd J_2O_5 erhalten wird, hatten die einen Autoren Anhydrojodsäure, die anderen Jodpentoxyd in Verwendung, ohne daß auf diese Tatsache und auf das unterschiedliche Verhalten der beiden Oxydationsmittel gegenüber Wasserstoff hingewiesen worden wäre.

Aus den Ergebnissen unserer 1940 beschriebenen Mikrosauerstoffbestimmungsmethode, wobei entsprechend der Herstellungstemperatur des Oxydationsmittels bei 180° C Anhydrojodsäure verwendet wurde, konnte der wichtige Schluß gezogen werden, daß die Anhydrojodsäure die jodometrische Kohlenoxydbestimmung auch bei Gegenwart von Wasserstoff gestattet, da dieses Oxydationsmittel im Gegensatz zum Jodpentoxyd mit dem bei der thermischen Substanzzerlegung entstehenden Wasserstoff *nicht* unter Jodentwicklung reagiert. Nacharbeiten unserer Mikrosauerstoffbestimmung, wobei die Autoren mit Jodpentoxyd z. T. beträchtlich zu hohe Sauerstoffwerte erhielten, zeigen eindeutig, daß Jodpentoxyd zur jodometrischen Kohlenoxydbestimmung bei unserer Mikrosauerstoffbestimmung infolge Jodfreimachung durch den Substanzwasserstoff ungeeignet ist. Zur klaren Herausstellung dieses Sachverhaltes wird eine Reihe von Analysen bekannter Substanzen angeführt, wobei wir unter den Bedingungen unserer Methode einmal Anhydrojodsäure, das andere Mal Jodpentoxyd verwendeten. Danach wurden mit

Jodpentoxyd insbesondere bei wasserstoffhaltigen Substanzen z. T. um mehrere Prozente zu hohe Sauerstoffwerte erhalten, während die mit Anhydrojodsäure gefundenen Werte innerhalb der zulässigen Fehlergrenze liegen. Bei sauerstofffreien Substanzen werden, wie die Analysenbeispiele mit Carbazol zeigen, Sauerstoffwerte der Größenordnung 0,03 bis 0,04% gefunden.

Die Reaktion des Kohlenoxydes mit der Anhydrojodsäure verläuft analog der bekannten Jodpentoxydreaktion: $5\text{CO} + \text{J}_2\text{O}_5 = 5\text{CO}_2 + \text{J}_2$ nach dem Schema: $15\text{CO} + 2\text{HJO}_3\text{J}_2\text{O}_5 = 15\text{CO}_2 + 3\text{J}_2 + \text{H}_2\text{O}$, wobei das Molverhältnis $\text{CO}:\text{J}_2 = 5:1$ in Übereinstimmung mit der Praxis in beiden Fällen gleich ist. Aus der quantitativen Bestimmung der Reaktionsprodukte Kohlendioxyd und Wasser ergab sich das Verhältnis $\text{CO}_2:\text{H}_2\text{O} = 15:1$, womit die Richtigkeit der Reaktionsgleichung bestätigt wird.

In Anbetracht der Bedeutung des Reinheitsgrades der Anhydrojodsäure für deren Beständigkeit bei der Gebrauchstemperatur von 118°C wurde ein Verfahren zur Herstellung sehr reiner kristallisierter Anhydrojodsäure durch Umkristallisieren der käuflichen, aus einem Gemisch von Anhydrojodsäure und Jodsäure bestehenden Jodpentoxydprodukte aus siedender 60%iger Salpetersäure ausgearbeitet. Grelles Tageslicht, Zutritt von Feuchtigkeit und Staub sind bei der Herstellung auszuschließen. Über Phosphorpenoxyd und Ätzkali im Vakuumexsikkator aufbewahrt zeigt die Anhydrojodsäure auch nach Jahren keine Veränderung. Grundsätzlich werden nur Präparate verwendet, die bei der Gebrauchstemperatur ihr ursprüngliches, rein weißes Aussehen beibehalten.

Die Beständigkeit der kristallisierten Anhydrojodsäure unter den Bedingungen der Sauerstoffbestimmung wurde durch Überleiten von Stickstoff und von Wasserstoff geprüft. Aus den hierbei erhaltenen Ergebnissen entfällt auf eine Analyse einer 10% Wasserstoff enthaltenden Substanz ein Sauerstoffplus von etwa $0,8\text{ }\mu\text{g}$. Dies stimmt gut mit den Ergebnissen unserer Praxis überein, wonach bei reinen Substanzen ohne Blindwertabzug vom Resultat korrekte Sauerstoffwerte erhalten werden.

Zwecks Erzielung einer möglichst gleichgroßen wirksamen Oberfläche des Oxydationsmittels werden jeweils Kristallkörner ein und derselben Größe verwendet, die durch zwei Siebe von 100 Maschen/cm² und 400 Maschen/cm² von den gröberen und feineren Anteilen getrennt werden.

Bei der Ingebrauchnahme von Oxydationsrohrfüllungen mit unversehrten, d. h. unzerbrochenen Kristallen wurde bisweilen die Erscheinung beschränkter Reaktionsfähigkeit mit Kohlenoxyd beobachtet. Durch mehrtägiges Erhitzen solcher Rohrfüllungen bei 150° wird völlige Aktivität erreicht; Oxydationsrohrfüllungen mit zerbrochenen Kristallen dagegen erwiesen sich in allen Fällen bei der Ingebrauchnahme als völlig aktiv.

Summary.

The determination of carbon monoxide by iodine titration, especially in the presence of hydrogen, has been looked upon as unreliable. The reasons mentioned in this respect were the decomposibility of the iodine pentoxide products used and the reaction of the hydrogen with the iodine pentoxide with development of iodine. In accordance with the manufacturing temperatures of the iodine pentoxide preparations, anhydriodic acid $\text{HIO}_2\text{I}_2\text{O}_5$ being obtained below 196°C and iodine pentoxide I_2O_5 being obtained above 196°C , some authors used anhydriodic acid and others iodine pentoxide, without reference being made to this fact nor to the different behaviour of the two oxidants towards hydrogen.

From the results of our micro oxygen determination method described in 1940, in which in accordance with the manufacturing temperature of the oxidant at 180°C anhydriodic acid was used, the important conclusion could be drawn that the anhydriodic acid HI_2O_5 allows the iodometric carbon monoxide determination also in the presence of hydrogen, because this oxidant, in contrast to iodine pentoxide I_2O_5 , does not react with the hydrogen formed in the thermal decomposition of the substance with development of iodine. Work along the lines of our micro oxygen determination, in which the authors with iodine pentoxide partly obtained oxygen values which were considerably too high, shows unambiguously that iodine pentoxide in our micro oxygen determination is unsuitable for the iodometric carbon monoxide

determination owing to the liberation of iodine by the hydrogen of the substance. In order to clearly describe this situation, a number of analyses of well-known substances is mentioned in which under the conditions of our method we used first anhydriodic acid and then iodine pentoxide. According to these analyses, high oxygen values, part of which were too high by several percents, were obtained with iodine pentoxide particularly in the case of hydrogen-containing substances, while the values found with anhydriodic acid in accordance with our micro oxygen practice were within the permissible variations. In the case of oxygen-free substances, as shown by the analysis examples with carbazol, oxygen values were found of the order of 0.03 to 0.04%.

The reaction of carbon monoxide with anhydriodic acid corresponds to the well-known iodine pentoxide reaction: $5\text{CO} + \text{I}_2\text{O}_5 = 5\text{CO}_2 + \text{I}_2$ according to the scheme: $15\text{CO} + 2\text{HIO}_3\text{I}_2\text{O}_5 = 15\text{CO}_2 + 3\text{I}_2 + \text{H}_2\text{O}$, the molar ratio $\text{CO} : \text{I}_2 = 5 : 1$, in accordance with practice, being the same in both cases. The quantitative determination of the reaction products carbon dioxide and water resulted in the ratio $\text{CO}_2 : \text{H}_2\text{O} = 15 : 1$, thus confirming the correctness of the reaction equation.

In view of the importance of the degree of purity of the anhydriodic acid with respect to its stability at the service temperature of 118°C , a process was developed for the manufacture of very pure crystallized anhydriodic acid by recrystallizing the commercially available iodine pentoxide products consisting of a mixture of anhydriodic acid and iodic acid from boiling 60% nitric acid. During the manufacture, fierce daylight and access of moisture and dust should be avoided. When stored over phosphorous pentoxide and caustic alkali in a vacuum desiccator, the anhydriodic acid does not show any change even after storage for several years. A point has been made of using only preparations which at the service temperature maintain their original purely white appearance.

The stability of the crystallized anhydriodic acid under the conditions of the oxygen determination was examined by passing nitrogen and hydrogen over the acid. From the results thus obtained, an oxygen plus of approx. 0.8% falls on an analysis of a substance containing 10% hydrogen. This is in good accord with the results of our micro oxygen practice, in which in the case of pure substances correct oxygen values are obtained with no blank value deduction from the result.

In order to obtain an active surface of the oxidant which is always the same as far as possible, crystal grains are used of always the same size, which are separated from coarser and finer portions by two sieves of 100 and 400 meshes per sq.cm.

When oxidation tube fillings with undamaged, i. e. unbroken crystals were taken into operation, it was sometimes observed that the reactivity with carbon monoxide was limited. By heating such tube fillings at 150°C for several days, complete activity is achieved; oxidation tube fillings with broken crystals, however, have in all cases proved to be completely active when taken into operation.

Résumé.

Le dosage de l'oxyde de carbone par titrage iodométrique était considéré comme incertain surtout en présence d'hydrogène. Les raisons données pour cela étaient la décomposition du pentoxyde d'iode et la réaction de l'hydrogène sur le pentoxyde d'iode avec dégagement d'iode. Suivant les températures de fabrication des préparations de pentoxyde d'iode, où on obtient de l'acide anhydro-iodique $\text{HJO}_3\text{I}_2\text{O}_5$ à moins de 196°C et du pentoxyde d'iode J_2O_5 à des températures supérieures à 196°C , certains auteurs utilisaient de l'acide anhydroiodique, les autres du pentoxyde d'iode, sans avoir évoqué ce fait ni le comportement différent des deux oxydants vis-à-vis de l'hydrogène.

D'après les résultats de notre méthode de microdosage de l'oxygène décrite en 1940 où selon la température de fabrication de 180°C de l'oxydant on utilise de l'acide anhydro-iodique, on pouvait en tirer la conclusion importante que l'acide anhydro-iodique $\text{HJO}_3\text{I}_2\text{O}_5$ permet de doser l'oxyde de carbone iodométriquement même en présence d'hydrogène, car cet oxydant au contraire du pentoxyde d'iode ne réagit pas sur l'hydrogène résultant de la décomposition thermique de la substance en provoquant un dégagement d'iode. Des travaux ultérieurs de notre méthode de microdosage de l'oxygène, où les auteurs obtenaient avec du pentoxyde d'iode J_2O_5 des indices d'oxygène qui étaient en partie considérablement trop élevés, montrent clairement que le pentoxyde d'iode n'est pas indiqué pour le titrage iodométrique de l'oxyde de carbone dans notre microdosage de l'oxygène par suite de la libération d'iode que provoque l'hydrogène de la substance. Pour mettre clairement les faits en évidence, nous avons fait une série d'analyses en utilisant selon les conditions de notre méthode une fois de l'acide anhydro-iodique et une autre fois du pentoxyde d'iode. D'après celles-ci, nous avons obtenu en employant du pentoxyde d'iode surtout avec des substances contenant de l'hydrogène, des indices d'oxygène en partie trop élevés de plusieurs pourcentages, alors que ceux trouvés avec l'acide anhydro-iodique selon notre pratique de microdosage de l'oxygène restent dans les limites

des erreurs admises. Dans des substances dépourvues d'oxygène on trouve des indices d'oxygène de l'ordre de grandeur de 0,03 à 0,04% comme les exemples d'analyse avec du Carbazol en témoignent.

La réaction de l'oxyde de carbone avec l'acide anhydro-iodique se déroule d'une façon analogue à la réaction connue du pentoxyde d'iode $5\text{CO} + \text{J}_2\text{O}_5 = 5\text{CO}_2 + \text{J}_2$ d'après le schéma $15\text{CO} + 2\text{HJO}_3\text{J}_2\text{O}_5 = 15\text{CO}_2 + 3\text{J}_2 + \text{H}_2\text{O}$, où le rapport molécule gramme $\text{CO}:\text{J}_2 = 5:1$ concorde exactement avec la pratique dans les deux cas. D'après le dosage quantitatif des produits de réaction, bioxyde de carbone et eau, il en est résulté comme rapport $\text{CO}_2:\text{H}_2\text{O} = 15:1$, ce qui confirme l'exactitude de l'équation.

Etant donné l'importance du degré de pureté de l'acide anhydro-iodique pour sa stabilité à la température d'utilisation de 118°C , on a procédé à l'achèvement d'une méthode de fabrication d'un acide anhydro-iodique cristallisé très pur par recristallisation dans l'acide nitrique à 60% bouillant du pentoxyde d'iode commercial, composé d'acide iodique et d'acide anhydro-iodique. Il faut exclure toute lumière du jour éblouissante, toute humidité et toute poussière lors de la fabrication. L'acide anhydro-iodique conservé sur du pentoxyde de phosphore et de la potasse caustique dans un dessiccateur à vide ne montre aucun changement après une conservation de plusieurs années. Par principe, nous n'utilisons que des préparations qui conservent à la température d'emploi leur aspect d'origine blanc pur.

La stabilité de l'acide anhydro-iodique cristallisé dans les conditions de dosage de l'oxygène fut examinée au moyen d'un courant d'azote et d'hydrogène. D'après les résultats ainsi obtenus, on trouve dans une analyse d'une substance contenant 10% d'hydrogène un plus d'oxygène d'environ 0,8%. Ceci concorde bien exactement avec les résultats de notre pratique du microdosage de l'oxygène d'après laquelle pour des substances pures on obtient sans déduire du résultat la valeur à blanc, des indices d'oxygène corrects.

Pour obtenir une surface d'oxydant uniforme dans tous les tubes, on utilise chaque fois des grains de cristaux d'une grandeur unique et constante qui sont séparés des particules assez grosses et des particules plus fines, au moyen de deux tamis ayant respectivement 100 mailles au cm^2 et 400 mailles au cm^2 .

Au moment de l'utilisation des tubes d'oxydation qu'on a remplis de cristaux intacts, c'est-à-dire non brisés, on a parfois observé le phénomène de puissance réactionnelle limitée avec l'oxyde de carbone. En chauffant durant plusieurs jours ces charges de tube à 150°C , on atteint une activité complète. Les charges de tube d'oxydation faites de cristaux brisés s'avèrent par contre dans tous les cas au moment de l'utilisation comme pleinement actives.

Literatur.

- ¹ V. Froboese, Z. analyt. Chem. **54**, 1 (1915).
- ² R. Kattwinkel, Brennstoff-Chem. **4**, 104 (1923).
- ³ P. Gouverneur, M. A. Schreuders und P. N. Degens jun., Analyt. Chim. Acta **5**, 293 (1951). J. Halowchak und G. E. C. Wear, Analyt. Chemistry **23**, 1404 (1951). M. Dundy und E. Stehr, Analyt. Chemistry **23**, 1408 (1951). V. A. Campanile, J. H. Badley, E. D. Peters, E. J. Agazzi und F. R. Brooks, Analyt. Chemistry **23**, 142 (1951). R. D. Hinkel und R. Raymond, Analyt. Chemistry **25**, 470 (1953).
- ⁴ W. H. Jones, Analyt. Chemistry **25**, 1449 (1953).
- ⁵ J. Unterzaucher, Ber. dtsch. chem. Ges., **73**, 391 (1940); Mikrochem. **36/37**, 706 (1951).
- ⁶ J. Unterzaucher, Analyst **77**, 584 (1952); Bull. soc. chim. France **1953**, C, 71.
- ⁷ E. Groschuff, Z. anorg. Chem. **47**, 331 (1950).
- ⁸ E. Meles und A. Perez-Vitoria, Z. physik. Chem., Bodenstein-Festband, **583** (1931).

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/83.

Zeilenanzahl: 698.

Aus dem I. Chemischen Laboratorium der Universität Wien.

Beiträge der Radiochemie zur Theorie der chemischen Analyse.

Von
T. Schönfeld.

(Eingelangt am 2. Juni 1955.)

Die radioaktiven Stoffe stellen ein vielseitiges Hilfsmittel der chemischen Analyse dar. Ihre große Bedeutung für dieses Gebiet beruht auf mehreren Faktoren: 1. Radioaktive Stoffe können durch Strahlungsmessung schon in sehr geringer Menge nachgewiesen werden; sie finden daher besonders in der *Mikrochemie* ausgedehnte Anwendung. 2. Häufig ist die Bestimmung durch Strahlungsmessung im Vergleich zu anderen Methoden sehr einfach und schnell; durch Anwendung radiochemischer Methoden kann man oft chemische Abtrennungen ersparen. 3. Manchmal können die Bestimmungen durch Strahlungsmessung überhaupt ohne chemische oder physikalische Zerstörung der zu untersuchenden Proben ausgeführt werden. 4. Mit Hilfe von Radioelementen kann man Elemente oder Verbindungen „markieren“ und dann durch Strahlungsmessung zwischen den markierten und nicht-markierten Atomen bzw. Molekülen gleicher chemischer Art unterscheiden.

Eine Besprechung der grundsätzlichen Verwendungsmöglichkeiten von Radioelementen in der chemischen Analyse und Mikrochemie ist bereits in anderen Übersichtsarbeiten erfolgt¹⁻³, weshalb auf deren Aufzählung hier verzichtet werden kann. Die Anwendungen der Radioelemente auf die chemische Analyse können in zwei Gruppen eingeteilt werden: einerseits in direkte Verwendungen im Rahmen eigener analytischer Methoden, andererseits in Anwendungen bei der Ausarbeitung und Überprüfung von sonstigen Analysenverfahren. Zu der zweiten Gruppe sind auch Untersuchungen über die physikalisch-chemischen Grundlagen der Analyse zu zählen. Die vorliegende Arbeit soll einen Überblick über die Bedeutung radiochemischer Methoden für dieses letztgenannte Gebiet geben. Dabei sollen im folgenden Beiträge gemeinsam besprochen werden, die sich mit der physikalischen Chemie des gleichen Vorgangs beschäftigen — unabhängig davon, in welcher Weise radiochemische Methoden dabei herangezogen wurden.

Einleitend aber noch eine allgemeine Bemerkung: Die Entstehung der Beiträge der Radiochemie zur Theorie der chemischen Analyse wird verständlich, wenn man die Wechselbeziehungen zwischen der Radiochemie und anderen Zweigen der Chemie betrachtet. Das Arbeiten mit trägerfreien Radioelementen, d. h. also mit kleinsten Stoffmengen, die in der Regel nur mehr mittels der von ihnen abgegebenen energiereichen Strahlung nachgewiesen werden können, stellt eine ins Extrem getriebene Mikrochemie dar. Gewisse Probleme der Mikrochemie, wie das Auftreten von Verlusten durch Adsorption, treten also hier mit besonderer Schärfe auf und zwingen den Radiochemiker, nach neuen Methoden zu suchen. So ist z. B. die heute sogar in technischem Maßstab betriebene Trennung von Seltenen Erden durch Chromatographie an Ionenaustauschersäulen aus Versuchen entstanden, die in unwägbar Mengen gebildeten Produkte der Urankernspaltung zu trennen. Auch verschiedene Extraktionsverfahren sind zur Bewerkstelligung schwieriger Trennungen gewichtsloser Mengen von Radioelementen entwickelt worden und haben erst später Anwendung auf andere Zweige der Chemie gefunden. Umgekehrt ist die Radiochemie natürlich stets bemüht, Methoden, die für andere

Zwecke entwickelt wurden, zur Lösung eigener Probleme heranzuziehen. So sind in der Frühzeit der Erforschung der Radioaktivität für die Abtrennung der einzelnen Radioelemente — entsprechend dem damaligen Stand der Chemie — vor allem Fällungsverfahren verwendet worden. Heute benützt die Radiochemie z. B. häufig Extraktionsverfahren, die im Zusammenhang mit kolorimetrischen Bestimmungsmethoden ausgearbeitet wurden.

Fällung und Mitfällung.

Die Löslichkeit von Niederschlägen.

Die Verwendung von Radioelementen zur Löslichkeitsbestimmung ist schon aus historischen Gründen an erster Stelle zu nennen. Als nämlich *Hevesy* und *Paneth* im Jahre 1913 erkannten, daß die chemische Nicht-Trennbarkeit des Radioelementes Radium D von Blei zur „radioaktiven Markierung“ von Blei und dadurch zu einer auf Strahlungsmessung beruhenden Bleibestimmung herangezogen werden kann, wendeten sie dieses Prinzip zuerst zur Bestimmung der Löslichkeit von schwerlöslichen Bleisalzen an⁴. Sie stellten die Niederschläge in markierter Form her, schüttelten sie längere Zeit mit Wasser und bestimmten schließlich die in Lösung gegangene Bleimenge durch Messung der Aktivität des Eindampfrückstandes eines Teiles der Lösung. So konnte noch eine Löslichkeit von $1,2 \cdot 10^{-4}$ g Bleichromat/Liter in Wasser und von $1,5 \cdot 10^{-4}$ g Bleisulfid/Liter in schwefelwasserstoffsättigtem Wasser festgestellt werden. Seither sind die Löslichkeiten zahlreicher anderer Stoffe nach dieser Methode bestimmt worden. (Bei einem Teil der Bestimmungen wurden die Gehalte der gesättigten Lösung durch Ausfällen der Radioelemente mit Hilfe inaktiver Zusätze — Träger — und Aktivitätsmessungen an den Niederschlägen bestimmt.) So wurde durch Versuche mit Radiokobalt festgestellt, daß die Löslichkeit von Kobalt- β -nitroso- α -naphthol nur etwa ein Zehntel der Löslichkeit von Kobalt- α -nitroso- β -naphthol beträgt und daß daher β -Nitroso- α -naphthol als Fällungsreagens für Kobaltbestimmungen vorzuziehen ist⁵.

Teilchengröße und Alterung von Niederschlägen.

Eine Oberflächenbestimmung von Niederschlägen mit Hilfe radioaktiver Indikatoren wurde zuerst von *Paneth* vorgeschlagen^{6,7} (Übersicht siehe ⁸). Bei Versuchen mit Bleisulfatkristallen hatte sich ergeben, daß der Austausch zwischen den Bleionen des Bodenkörpers und den Ionen des Bleisotops Thorium B, das der gesättigten Lösung zugesetzt worden war, zuerst ziemlich rasch vor sich geht, dann aber lange vor Erreichen einer Gleichverteilung des Thorium B über Niederschlag und Lösung beinahe vollkommen zum Stillstand kommt. Daraus wurde der Schluß gezogen, daß nur eine gewisse Oberflächenschicht am schnellen Austausch teilnimmt — während weiterer Austausch wegen der geringen Geschwindigkeit der Diffusion der Bleionen im Kristall praktisch nicht stattfindet. Die Menge Blei, die sich in der schnell austauschenden Oberflächenschicht befindet, kann aus der sich einstellenden Verteilung von Thorium B zwischen Kristall und Lösung berechnet werden. Unter der Annahme, daß die austauschende Schicht nur monomolekular ist, kann aus der Menge des austauschenden Bleis die Größe der Oberfläche berechnet werden. Ein Vergleich dieser Oberflächenbestimmung mit jener nach anderen Methoden ergab plausible Ergebnisse. Die mit der radioaktiven Methode erhaltenen Werte waren von der gleichen Größenordnung, jedoch im allgemeinen größer als die aus geometrischen Messungen berechneten Werte, was zwanglos durch die Nichtberücksichtigung von Spalten und Sprüngen bei der geometrischen Oberflächenbestimmung erklärt werden kann.

Die Methode von *Paneth* ist als Absolutmethode nur dann anwendbar, wenn gerade alle an der Oberfläche eines Niederschlages befindlichen Ionen am Austausch teilnehmen; ein größerer oder ein geringerer Austausch macht die exakte Auswertung unmöglich. Versuche von *Kolthoff* und Mitarbeitern zeigten, daß bei nicht gealterten Niederschlägen bedeutend größere Teile der Kristalle am Austausch beteiligt sind⁹. Andererseits stellte *Paneth* fest, daß der Austausch in gewissen Fällen auch geringer

sein kann, als man auf Grund der geometrisch berechneten Oberfläche erwarten würde^{8, 10}. So wurde bei natürlichem Bleiglanz nahezu kein Austausch beobachtet. Man erkennt also, daß die Methode nur in beschränktem Maß anwendbar ist, nämlich nur nach Sicherstellung, daß gerade die ganze Oberfläche mit genügender Geschwindigkeit am Austausch teilnimmt. Sie kommt daher noch am ehesten für gealterte Niederschläge oder für Kristalle in Frage, die aus Schmelzen gewonnen wurden.

Interessante Untersuchungen über die Alterung von Niederschlägen sind von *Kolthoff* und Mitarbeitern mit Hilfe von Radioelementen ausgeführt worden^{11, 12}. Da die Arbeiten Anfang der Dreißigerjahre — also vor der Entdeckung der künstlichen Radioaktivität — begonnen wurden, gelangten hauptsächlich Bleisalze zur Untersuchung. Im allgemeinen wurde folgende Methode verwendet: Radioblei-Ionen (Thorium B) wurden der mit dem Bleisalz in Berührung stehenden gesättigten Lösung zugesetzt und dann die Aufnahme durch Strahlungsmessung verfolgt. Dabei wurden die Zeit zwischen Fällung und Beginn des Austausches (Zugabe des Thorium B) und auch die Bedingungen der Fällung und Lagerung variiert. Der in den Niederschlag übergegangene Teil des Thorium B wurde für mehrere Austauschzeiten bestimmt. Der zeitliche Verlauf der Thorium B—Aufnahme zeigte dabei eine charakteristische Abhängigkeit von der Alterungszeit bzw. den Alterungsbedingungen des Niederschlages. Mit Hilfe dieser Methode konnte gezeigt werden, daß die Alterung vor allem in einer über die äußere Lösung (im Gegensatz zu der in Mikroporen eingeschlossenen Lösung) verlaufenden Rekristallisation besteht. Während die Ionenkonzentration der äußeren Lösung meistens keinen wesentlichen Einfluß auf die Alterungsgeschwindigkeit auszuüben scheint, spielt die Löslichkeit des Niederschlags eine wichtige Rolle. So wurde beobachtet, daß die Alterung von Bleisulfat in Lösungen mit zunehmendem Gehalt an Methyl- und besonders an Äthylalkohol immer langsamer verläuft. Diese Abnahme der Alterungsgeschwindigkeit geht mit der Abnahme der Löslichkeit von Bleisulfat in alkoholischen Lösungen parallel.

Mitfällung und Mitkristallisation.

Systematische Untersuchungen über die Mitfällung von natürlichen Radioelementen aus ihren hochverdünnten Lösungen sind schon frühzeitig aus dem Bestreben heraus begonnen worden, einen genaueren Einblick in diese für die Abtrennung von Radioelementen damals im Vordergrund stehenden Methoden zu erhalten. Beiträge zu diesem Gebiet verdankt man vor allem *Fajans*, *Paneth* und *Hahn*. Die grundsätzlich wichtige Aufgliederung der Mitfällungsvorgänge in zwei Gruppen — Mitfällung durch Mischkristallbildung und Mitfällung durch Adsorption — ist zuerst von *Hahn* vorgeschlagen worden. Die Einteilung eines bestimmten Mitfällungsvorgangs in die eine oder andere dieser beiden Gruppen ist gewöhnlich schon auf Grund einfacher Versuche möglich: Während der mitgefällte Anteil eines Radioelementes bei Mischkristallbildung von den Abscheidungsbedingungen — also z. B. von den Ionenkonzentrationen in der Lösung — weitgehend unabhängig ist, können diese Bedingungen bei Mitfällung durch Adsorption einen starken Einfluß ausüben. Durch Autoradiographie oder durch schichtenweises Auflösen der Kristalle läßt sich auch feststellen, ob das Radioelement kontinuierlich — wenn auch nicht unbedingt homogen — verteilt ist (Mischkristallbildung) oder ob es an Flächen, Kanten oder in Form von Einschlüssen konzentriert ist (Adsorption).

Durch systematische radiochemische Untersuchungen konnten qualitative und quantitative Gesetzmäßigkeiten der verschiedenen Arten von Mitfällung und Mitkristallisation aufgeklärt werden. Hier sei die vorwiegend auf den radiochemischen Untersuchungen beruhende Kenntnis dieser Vorgänge kurz dargelegt (ausführlichere Zusammenstellungen¹³⁻¹⁵):

a) Mitfällung und Mitkristallisation durch echte Mischkristallbildung.

Kann ein gewisses Ion in beliebiger Menge in das Gitter eines anderen Salzes eingebaut werden, was ja fast immer auf Ersatz von Ionen des reinen Salzes durch die einzubauenden Ionen beruht, so findet unweiger-

lich Mitfällung bzw. Mitkristallisation statt — auch wenn das Löslichkeitsprodukt für das Salz der in großer Verdünnung vorliegenden Ionen noch gar nicht erreicht ist. Die Gesetzmäßigkeiten einer solchen auf Mischkristallbildung beruhenden Abscheidung sind dieselben — unabhängig davon, ob es sich um Mitfällung oder um Mitkristallisation handelt. Allerdings können bei der Fällung lokal starke Konzentrationsunterschiede auftreten, die die Reproduzierbarkeit verschlechtern und deren Auswirkungen quantitativ kaum zu erfassen sind. (Die Reproduzierbarkeit der Mitfällung wird natürlich verbessert, wenn das fällende Reagens nicht zugesetzt, sondern in der Lösung erzeugt wird; „homogene Fällung“.)

Für die Diskussion von Mitfällung oder Mitkristallisation durch Mischkristallbildung betrachtet man am einfachsten ein System, in dem die Konzentration des Radioelementes (Mikrokomponente) im Vergleich zu der Konzentration des als Träger dienenden Stoffes (Makrokomponente) sehr gering ist. Dann ist die Verteilung der Mikrokomponente zwischen einer differentiellen Oberflächenschicht des Niederschlages und der Lösung durch einen einfachen Verteilungssatz gegeben:

$$f = \frac{[A_S][B_L]}{[A_L][B_S]}$$

wobei f einen für gewisse Versuchsbedingungen konstanten Verteilungskoeffizienten, $[A_L]$ und $[B_L]$ die Konzentrationen — oder genauer die Aktivitäten — der Mikro- bzw. der Makrokomponente und $[A_S]$ und $[B_S]$ ihre Konzentrationen in der differentiellen Oberflächenschicht bezeichnen. Für die Werte des Koeffizienten f ist es bis jetzt noch nicht gelungen, allgemein gültige Zusammenhänge — z. B. zu den Löslichkeiten der Reinstoffe — festzustellen; sogar eine Voraussage ob f kleiner oder größer als eins ist, erweist sich vorläufig als unmöglich. Für die Ausführung von Trennungen wird man natürlich Mitfällungen oder -kristallisationen den Vorzug geben, die durch einen Verteilungskoeffizienten gekennzeichnet sind, der möglichst von eins verschieden ist.

Für die Ausführung der Trennungen spielt aber auch die Kinetik der Kristallisation oder Fällung eine Rolle. Die integrale Verteilung eines Radioelementes zwischen Niederschlag und Lösung hängt nämlich davon ab, ob die Abscheidung unter Bedingungen erfolgt ist, die eine Gleichgewichtseinstellung zwischen dem Kristallinneren und der Lösung gestatten. Eine solche Gleichgewichtseinstellung ist dann möglich, wenn die Abscheidung verhältnismäßig langsam durchgeführt wird, d. h. wenn sich durch Rekristallisation eine Gleichverteilung des Radioelementes über den Niederschlag einstellen kann. (Die Gleichgewichtseinstellung durch Diffusion erfolgt, wie bereits bei der Besprechung der Oberflächenbestimmung bemerkt wurde, sehr langsam und spielt daher bei den Trennungen durch Fällung oder Kristallisation kaum eine Rolle.) Wenn dagegen die eben erwähnte Gleichgewichtseinstellung durch die Wahl der Fällungsbedingungen verhindert wird, so ist die Konzentration der Mikrokomponente im abgeschiedenen Feststoff nicht homogen. Da sich die Zusammensetzung der Lösung mit fortschreitender Abscheidung verändert, weisen auch die jeweils neuhinzukommenden Schichten eine sich mit dem Fortschreiten der Abscheidung verändernde Konzentration an der Mikrokomponente auf. Wenn f größer als eins ist, nimmt das Konzentrationsverhältnis $[A_L]/[B_L]$ mit fortschreitender Abscheidung ab und die Oberflächenschichten verarmen daher immer mehr an der Mikrokomponente.

Für die beiden Extremfälle — vollkommene bzw. gänzlich unterbundene Einstellung der Gleichverteilung der Mikrokomponente über die abgeschiedenen Mischkristalle — liegen einfache Formeln vor: Bei Gleichgewichtseinstellung innerhalb der Mischkristalle gilt eine *Berthelot-Nernst*-Verteilung, d. h. die in der obigen Formel nur für die Oberflächenschicht ausgedrückte Beziehung gilt auch für die ganze feste Phase. Dann kann man unter Berücksichtigung der praktischen Konstanz der Konzentrationen der Makrokomponente in beiden Phasen schreiben:

$$f = [A_N]/[A_L]$$

wobei mit $[A_N]$ die Konzentration der Mikrokomponente im Niederschlag

bezeichnet wird. Nützlich ist auch die Form

$$\frac{1}{X_A} - 1 = \frac{1}{f} \left(\frac{1}{X_B} - 1 \right)$$

wobei X_A und X_B den abgeschiedenen Bruchteil der Mikro- bzw. Makrokomponente bezeichnen.

Ist die Gleichgewichtseinstellung zwischen Kristallinnerem und Lösung vollkommen unterbunden, so gilt das zuerst von *Doerner* und *Hoskins*¹⁶ abgeleitete Verteilungsgesetz:

$$\log(1 - X_A) = f \log(1 - X_B).$$

Ein Vergleich der beiden zuletzt angegebenen Formeln zeigt, daß bei einem gewissen Wert von X_B das Verhältnis X_A/X_B in der *Doerner-Hoskins*-Verteilung immer stärker von eins abweicht wie in der *Berthelot-Nernst*-Verteilung. Die Trennung wird also verbessert, wenn die Abscheidung unter Bedingungen erfolgt, die Rekristallisation verhindern.

Untersuchungen über die Bedingungen, die diese beiden Arten der Verteilung herbeiführen, sind vor allem von *Chlopin*¹⁷⁻²², von *Riehl* und *Kädin*²³ und von *Mumbrauer*²⁴ mit Hilfe von Radioelementen durchgeführt worden. Es wurde festgestellt, daß die Mitkristallisation von Radium aus ursprünglich übersättigten Barium-Chlorid-Lösungen nach sechs Stunden kräftigem Rühren eine *Berthelot-Nernst*-Verteilung liefert; auch sehr langsame Mitkristallisation aus nicht gerührten Lösungen führt nach mehreren Tagen zu dieser Verteilung. *Doerner-Hoskins*-Verteilung wurde hingegen bei isothermem Eindampfen von Barium-Radium-Chlorid-Lösungen und bei sofortigem Abfiltrieren nach Kristallisation aus gerührten übersättigten Lösungen beobachtet.

b) Mitfällung und Mitkristallisation durch anomale Mischkristallbildung.

Die oben besprochenen Gesetzmäßigkeiten wurden auch mit guter Reproduzierbarkeit bei Mitfällungen in bestimmten Systemen beobachtet, bei denen bis dahin keine Mischkristallbildung zwischen den Salzen der beiden Komponenten bekannt geworden war. So wie bei den Mitabscheidungen durch echte Mischkristallbildung wurde auch in diesen Fällen kein wesentlicher Einfluß der Abscheidungsbedingungen gefunden. Auf Grund der Versuchsergebnisse mußte also ein mischkristallartiger Einbau der Radioelemente angenommen werden, der von *Hahn* „anomale Mischkristallbildung“ benannt wurde^{13, 25}. Diese mit sehr kleinen Konzentrationen der Mikrokomponente beobachteten Erscheinungen regten dann Untersuchungen mit größeren Konzentrationen an. Diese ergaben, daß tatsächlich eine — wenn auch nur sehr begrenzte — Mischkristallbildung vorliegt. Z. B. kann Blei bis zu 0,1 Mol-% in das Barium-chloridgitter eingebaut werden; in anderen Fällen ist die „Löslichkeit“ noch bedeutend geringer.

„Anomale Mischkristallbildung“ ist bis jetzt vor allem für die Mitkristallisation von Blei mit Alkalihalogeniden, mit Bariumchlorid und mit Silberchromat festgestellt worden. Der Einbau in die Halogenidkristalle wurde von *Hahn* als Einbau komplexer Bleihalogenidionen erklärt¹³. Beachtenswert sind auch die neueren Untersuchungen von *Booth*, bei denen Stoffe gefunden wurden, die zwar durch beschränkte Mischkristallbildung in andere Salze aufgenommen werden, wenn sie in wägbaren Mengen vorliegen, die aber nicht aus ihren hochverdünnten Lösungen eingebaut werden²⁶. Bei den Versuchen von *Booth* ergab sich interessanterweise, daß die aus ihren hochverdünnten Lösungen in Kochsalzkristalle eingebauten Ionen einen starken Einfluß auf die Form der Kochsalzkristalle ausüben, wenn sie in wägbaren Mengen vorhanden sind. Offenbar ist also das Auftreten starker Bindungen eine Voraussetzung für den Einbau aus hochverdünnten Lösungen. Systematische Untersuchungen über das Auftreten anomaler Mischkristallbildung stehen noch aus.

c) Mitfällung durch Adsorption.

Die Diskussion der Mitfällung durch Adsorption an Kristalloberflächen (Niederschlagsflächen) erfolgt am besten an Hand einer näheren

Betrachtung solcher Oberflächen. Wie schon *Lottermoser* gezeigt hat, wird die Ladung von Niederschlägen durch die im Überschuß vorhandenen Ionen bestimmt; man hat sich vorzustellen, daß der Kristall eine Oberflächenschicht aufweist, in der jene den Kristall aufbauende Ionenart überwiegt, die in der Lösung im Überschuß vorhanden ist²⁷. Die dadurch dem Niederschlag verliehene Aufladung wird durch einen Überschuß entgegengesetzt geladener, aber weniger fest adsorbierter Ionen, sogenannter Gegenionen, kompensiert. Diese befinden sich in einer diffusen, den Kristall umgebenden Schicht. Es ist nun durchaus einzusehen, daß Ionen, deren Wechselwirkungskräfte mit den entgegengesetzt geladenen Gitterbausteinen genügend stark sind, auch dann in die fest gebundene Oberflächenschicht eingebaut werden, wenn sie nicht mischkristallartig in den Kristall selbst aufgenommen werden können. Die Schwerlöslichkeit des Salzes (in makroskopischen Mengen), das aus den adsorbierten Ionen und den entgegengesetzt geladenen Ionen des Niederschlags besteht, kann — wie in verschiedenen Versuchsreihen festgestellt wurde (siehe z. B. ²⁸) — als ungefähres Maß für diese Wechselwirkungskräfte herangezogen werden. Man erkennt auch, daß Mitfällung durch einen solchen Einbau in die Oberflächenschicht vor allem dann merklich sein wird, wenn der Niederschlag eine Ladung trägt, die der der zu adsorbierenden Ionen entgegengesetzt ist. Bei Ladung gleichen Vorzeichens wirken den eben erwähnten Wechselwirkungskräften elektrostatische Kräfte entgegen. Ferner befinden sich in diesem Fall häufig merkliche Konzentrationen jener Ionen des Niederschlags in Lösung, die eine Ladung von gleichem Vorzeichen wie die zu adsorbierenden Ionen aufweisen; dadurch kommt es zu einer Verdrängung der Mikrokomponente aus der Oberflächenschicht. Diese Bedingungen der Mitfällung durch Adsorption sind von *Hahn* folgendermaßen formuliert worden^{13,29}: „Ein in beliebiger Verdünnung vorliegendes Ion wird an einem Niederschlag stark adsorbiert, wenn der Niederschlag eine dem Ion entgegengesetzte Ladung trägt und wenn die durch Adsorption entstandene Verbindung zwischen dem Radioelement und dem entgegengesetzt geladenen Ion im vorliegenden Lösungsmittel schwer löslich ist.“ Auf die Bedeutung der Schwerlöslichkeit hatte schon *Paneth* 1914 auf Grund eines größeren Versuchsmaterials hingewiesen³⁰.

Der *Hahnschen* Adsorptionsregel ist hinzuzufügen, daß auch Kleinheit der Dissoziation der „Oberflächenverbindung“ Mitfällung bewirken kann; z. B. wird Quecksilber(II)-Ion an Silbercyanidniederschlägen stark adsorbiert.

Adsorption tritt aber manchmal auch auf, wenn die „Oberflächenverbindung“ in Makromengen nicht besonders schwerlöslich oder wenig dissoziiert ist. So wurde sehr starke Mitfällung von Mesothor 2 (Actinium 228) und immerhin noch merkliche Mitfällung von Thorium X (Radium 224) an Silberhalogenidniederschlägen festgestellt²⁸. Die Stärke der Wechselwirkung der adsorbierten Ionen mit der Niederschlagsoberfläche ist in diesen Fällen offenbar auf die mehrfache Ladung der adsorbierten Ionen und auf die Polarisierbarkeit von adsorbierten oder Gitter-Ionen zurückzuführen.

Bemerkenswert ist auch, daß man Niederschlägen durch geringe Zusätze ein verändertes Adsorptionsverhalten verleihen kann. Ein Beispiel hierfür wurde bei der Trennung von Mesothor 1 (Radium 228) und dessen Folgeprodukt Radiothor (Thorium 228) beobachtet. Zur Trennung wird der Lösung der beiden Radioelemente Eisen(III)-Ion zugesetzt und dieses dann durch Ammoniak gefällt. Dabei wird Thorium durch Adsorption mitgefällt. In Gegenwart von Kohlendioxyd kann die Trennung jedoch nicht durchgeführt werden, da dann auch Radium mitfällt. Offenbar werden auch Carbonationen am Eisenhydroxydniederschlag adsorbiert, die dann ihrerseits die Adsorption von Radium herbeiführen.

Die quantitative Seite der Mitfällung durch Adsorption ist kompliziert. Wesentlich ist jedenfalls die Größe der Oberfläche der adsorbierenden Kristalle: Frisch gefällte Niederschläge zeichnen sich durch großes Adsorptionsvermögen aus. Wie schon erwähnt, wird der adsorbierte

Anteil auch von der Stärke der Aufladung der Kristalle bestimmt. So konnten *Fajans* und *Erdey-Grúz* zeigen, daß die Adsorption von Radioblei an vorgebildetem (ursprünglich ungeladenem) Silberbromid zunimmt, wenn man der Adsorptionslösung mehr Bromidionen zusetzt³¹.

Aus dem bereits Gesagten folgt, daß man die Adsorption von Ionen verhindern kann, indem man der Lösung in größerer Konzentration andere Ionen zusetzt, die ebenfalls an dem betreffenden Niederschlag adsorbiert werden. Diese Ionen, die in der Radiochemie als „Zurückhalteträger“ bezeichnet werden, verdrängen dann die Ionen, deren Adsorption verhindert werden soll, aus der Oberflächenschichte des Niederschlags. Beispielsweise kann die schon erwähnte Adsorption von Radium an Eisenhydroxyniederschlägen, die bei Gegenwart von Kohlendioxyd auftritt, durch Zugabe von Bariumionen als Zurückhalteträger verhindert werden.

Eisenhydroxyniederschläge bewirken die Mitfällung einer beträchtlichen Zahl von Ionen durch Adsorption. Sie werden daher häufig für radiochemische Trennungen und in wachsendem Maß auch für Anreicherungen im Rahmen von chemischen Bestimmungsmethoden verwendet. Das Adsorptionsverhalten solcher Niederschläge ist daher eingehender untersucht worden^{32, 33}.

Bei einigen Mitabscheidungen, die auf Grund der schlecht reproduzierbaren Verteilungswerte und der nicht aufgefundenen Mischkristallbildung auf Adsorptionsvorgänge zurückzuführen wären, wurden von *Hahn* gewisse Besonderheiten gegenüber den gewöhnlichen Mitfällungen durch Adsorption aufgefunden — vor allem hinsichtlich der Verteilung der Radioelemente in den Kristallen. Autoradiogramme zeigten, daß die Radioelemente nicht nur an der Oberfläche adsorbiert, sondern diskontinuierlich, aber doch mit einer gewissen Regelmäßigkeit in die Kristalle eingebaut worden waren¹³. An manchen Kristallen wurde eine Bevorzugung des Einbaus an gewissen kristallographischen Ebenen festgestellt. *Hahn* hat diese Erscheinung, die z. B. bei der Mitabscheidung von Radioblei, Radium und Polonium in Alkalisulfaten beobachtet wurde, als „Mitfällung durch innere Adsorption“ bezeichnet. Er nimmt an, daß die Ionen des Radioelementes an den wachsenden Kristallen unter Bildung sehr schwerlöslicher Oberflächenverbindungen adsorbiert werden, die dann beim weiteren Wachstum der Kristalle nicht abgebaut, sondern durch die Entstehung neuer Schichten eingeschlossen werden. *Booth* meint demgegenüber, daß die „innere Adsorption“ nicht an den Netzebenen der Kristalle, sondern an Fehlstellen erfolgt²⁶.

Mitfällung durch Adsorption tritt natürlich auch an Kristallen auf, bei denen es zu Einbau durch Mischkristallbildung kommt. Die Adsorptionsvorgänge spielen aber dann meistens nur eine untergeordnete Rolle.

Das systematische Studium der Mitfällungsvorgänge scheint für die chemische Analyse in mehrfacher Hinsicht von Bedeutung. Vor allem kann es zur Beseitigung störender Mitfällungserscheinungen und so zur Verbesserung der Genauigkeit analytischer Methoden beitragen. Andererseits kann die Mitfällung als Grundlage von Anreicherungsverfahren dienen und so die Steigerung von Nachweisempfindlichkeiten ermöglichen.

Adsorption.

Mit Hilfe radiochemischer Methoden sind auch verschiedene Adsorptionserscheinungen an anderen Stoffen als den schon behandelten salzartigen Bodenkörpern näher untersucht worden, die für die chemische Analyse Bedeutung haben. Hier sei vor allem auf Fehler in mikroanalytischen Methoden hingewiesen, die durch Adsorption hervorgerufen werden.

Mehrere Arbeiten haben sich mit den Adsorptionsvorgängen an Gefäßwänden, insbesondere an Glas, beschäftigt. Schon frühzeitig wurden Verluste an Radioelementen durch Adsorption an Glas festgestellt³⁴; weitere Untersuchungen brachten dann die ersten quantitativen Angaben³⁵. Neuere Arbeiten zeigten, daß Ionenaustauschvorgänge bei der Kationenadsorption an Glas eine wichtige Rolle spielen³⁶⁻³⁸. Durch Versuche mit Radioblei konnte festgestellt werden, welche Ionenkonzentrationen

trationen die Verluste von Bleispuren durch Verdrängen von den Adsorptionsstellen verhindern³⁸. Die Bleiadsorption erwies sich allerdings als teilweise irreversibel, d. h. es können die an Glas adsorbierten Bleiionen in einen festen Bindungszustand übergehen, aus dem sie auch durch Lösungen hoher Ionenkonzentration nicht oder nur sehr langsam wieder verdrängt werden³⁹. Ähnliche Erscheinungen wurden auch an Quarzglas festgestellt, allerdings ist dort die Adsorptionskapazität wesentlich geringer.

Mit Hilfe radiochemischer Methoden wurde auch die Adsorption von Anionen an Glasoberflächen nachgewiesen und näher untersucht⁴⁰.

Daß Filterpapier Ionen aus Lösungen adsorbieren kann, ist allgemein bekannt. Bei der Aufklärung des Adsorptionsmechanismus — es handelt sich um einen reversiblen Ionenaustausch an Carboxylgruppen, die in der Zellulose stets in kleinen Mengen vorhanden sind — wurden radiochemische Methoden mit Vorteil eingesetzt³⁸. Auch hier konnte angegeben werden, welche Ionenzusätze für eine Unterdrückung der Adsorption ausreichen.

Verteilung zwischen flüssigen Phasen.

Bei der Untersuchung von Verteilungsgleichgewichten zwischen flüssigen Phasen haben Radioelemente vor allem dort Anwendung gefunden, wo besonders empfindlicher oder möglichst einfacher Nachweis angestrebt wurde.

Ein Beispiel für die Ausnutzung der großen Empfindlichkeit ist die Bestimmung der Löslichkeit von Wasser in verschiedenen Kohlenwasserstoffen^{41, 42}, die mit Hilfe von tritium-markiertem Wasser ausgeführt wurde. Die beiden Flüssigkeiten — Wasser und Kohlenwasserstoff — wurden nicht direkt miteinander in Berührung gebracht, um die mit großen Schwierigkeiten verbundene saubere Trennung von zwei flüssigen Phasen zu vermeiden. Statt dessen wurde ein inertes Trägergas im Kreis durch die beiden in gesonderten Gefäßen angeordneten Flüssigkeiten gepumpt und so eine gegenseitige Sättigung erzielt. Dann wurde das im Kohlenwasserstoff gelöste Wasser durch Aktivitätsmessung bestimmt. Auf Grund der verwendeten spezifischen Aktivitäten konnten noch 10^{-12} Mol Wasser nachgewiesen werden. Allerdings sind die aus solchen Versuchen berechneten Werte insofern kritisch zu betrachten, als sie eventuell auftretende Isotopeneffekte unberücksichtigt lassen.

Bekanntlich gilt der einfache *Nernstsche* Verteilungssatz nur dann, wenn der betrachtete Stoff in beiden Phasen in gleicher Form vorliegt. Ein beträchtlicher Teil der heute angewendeten Extraktionsverfahren beruht jedoch auf der Bildung von Komplexen in mindestens einer der Phasen. Zur Erfassung der für die Verteilung maßgebenden Gleichgewichte sind dann mehrere Verteilungsmessungen erforderlich. Diese können durch Heranziehung von Radioelementen sehr vereinfacht werden. Die Bedeutung der physikalisch-chemischen Untersuchung von Extraktionsverfahren hat *Sandell* in seiner Monographie über die kolorimetrische Spurenanalyse hervorgehoben⁴³: „Wenn sie (die Extraktionskoeffizienten) bestimmt sein werden, wird es möglich sein, die besten Bedingungen für Extraktionstrennungen anzugeben, die derzeit noch auf vorwiegend empirischer Grundlage fußen.“

Wie die Bestimmung solcher Daten die Ausarbeitung von leistungsfähigen Trennmethoden ermöglicht, zeigt die Untersuchung der Extraktion von Zirkonium und Hafnium in benzolische Lösungen des Komplexbildners Thenoyltrifluoroacetone (TTA), bei der radiochemische Methoden verwendet wurden⁴⁴. In gesonderten Versuchsreihen wurde die Verteilung der beiden Metalle bei konstantem pH (2-m Perchlorsäure) in Abhängigkeit von der Konzentration des TTA in der Benzolphase untersucht. Dabei ergab sich, daß der Verteilungskoeffizient zwischen Benzol und Wasser mit der vierten Potenz der TTA-Konzentration ansteigt, daß also im Benzol Komplexe vorliegen, die sich aus einem Metallion und vier TTA-Ionen zusammensetzen. Das Verhältnis zwischen den Gleichgewichtskonstanten der Extraktion für die beiden Elemente wurde zu ungefähr 20 bestimmt. Durch Auswahl geeigneter Volumina und Konzentrationen der TTA-Lösung konnten dann befriedigende

Trennungen von Zirkonium und Hafnium durchgeführt werden: So genüßten zwei Extraktionen mit 0,025-m TTA-Lösung, um das Verhältnis der Zirkonium- und Hafniumkonzentrationen einer Lösung, von 0,6 auf 0,01 zu senken.

Die Bestimmung von Verteilungsgleichgewichten nach radiochemischen Methoden ist auch zur Feststellung komplizierterer Komplexbildungs- und Hydrolysevorgänge in wäßrigen Lösungen herangezogen worden. Ein Beispiel hierfür ist die Untersuchung der Komplexbildung von Thorium mit Acetylaceton⁴⁵. Die beobachteten Verteilungswerte des Thoriums, die mit Hilfe von trägerfreiem Thorium 234 (Uran X₁) bestimmt wurden, ergaben folgendes Bild von der Extraktion mit Lösungen von Acetylaceton in Benzol: In die Benzolphase wird nur der ungeladene Komplex, der aus einem Thorium-Ion und vier Acetylaceton-Ionen besteht, aufgenommen. In der wäßrigen Lösung liegen alle Komplexe bis zum ungeladenen Komplex vor, d. h. Komplexe, die ein Thorium-Ion und ein bis vier Acetylaceton-Ionen enthalten. Negativ geladene und mehrkernige Komplexe werden nicht gebildet. Aus den gemessenen Verteilungswerten, die über ein Bereich von sechs Zehnerpotenzen variierten, konnten die Bildungskonstanten der vier Komplexe berechnet werden.

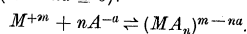
Auch bei der Bestimmung der Dissoziation von in Wasser schwerlöslichen Komplexbildnern kann, wie am Beispiel des Dithizons gezeigt wurde, die Empfindlichkeit des Nachweises von Radioelementen ausgenutzt werden⁴⁶. Die Bestimmung solcher Dissoziationskonstanten kann grundsätzlich durch Messung der Löslichkeit des Komplexbildners in wäßrigen Lösungen erfolgen, jedoch sind die gewöhnlichen Methoden hierfür zu wenig empfindlich. Die empfindliche radiochemische Methode besteht aus folgenden Schritten: Der mit dem Komplexbildner gesättigten Lösung setzt man ein radioaktiv markiertes Metallion im Überschuß zu, das mit dem Komplexbildner einen in organischen Lösungsmitteln bevorzugt löslichen Komplex gibt. (Bei der Bestimmung der Löslichkeit von Dithizon wurde Radiosilber verwendet.) Dann schüttelt man mit einem entsprechenden organischen Lösungsmittel und stellt durch Aktivitätsmessung fest, welche Menge des Metallions in die organische Phase aufgenommen wurde. Ist die Löslichkeit des Metallions selbst in der organischen Phase gering, was in vielen Fällen zutrifft, so ist die beobachtete Aufnahme zur Gänze auf den Komplexbildner zurückzuführen. Führt man diese Bestimmung bei verschiedenen pH-Werten aus, so kann aus den so gemessenen Gehalten der wäßrigen Lösung an Komplexbildner, die ja die Summe der Gehalte an undissoziiertem und an dissoziiertem Stoff darstellen, die Dissoziationskonstante berechnet werden.

Ionenaustauscher.

Zahlreiche Arbeiten über Ionenaustauscher, darunter auch solche über ihr physikalisch-chemisches Verhalten, sind von den Erfordernissen der Radiochemie angeregt worden und haben sich daher auch häufig radiochemischer Methoden bedient. Für die Bestimmung von Adsorptionsgleichgewichten sind Radioelemente vor allem dann verwendet worden, wenn die Konzentration der einen Ionenart in Lösung und Austauscher gegenüber der Konzentration der anderen Ionenart klein gehalten werden mußte (siehe z. B. ⁴⁷). Aber auch bei größeren Ionenkonzentrationen zieht man gerne Radioelemente zur Messung der Gleichgewichte heran (siehe z. B. ⁴⁸). Auf die Ergebnisse solcher Untersuchungen kann hier nicht näher eingegangen werden.

Nützlich ist eine von *Schubert* vorgeschlagene Methode, bei der Ionenaustauscher zur Bestimmung von Komplexbildungskonstanten herangezogen werden⁴⁹⁻⁵¹. Bei Verwendung von Radioelementen bietet die Methode besondere Vorteile. Liegt nämlich ein Ion nur in sehr geringer Konzentration vor und hält man die Konzentration der anderen Ionen konstant, so ist das Verhältnis seiner Konzentrationen im entsprechenden Ionenaustauscher und in der Lösung konstant. Nimmt das Ion in der Lösung aber an einem Komplexbildungsvorgang teil, bei dem nicht in den Austauscher aufgenommene Komplexe gebildet werden, so kann aus der sich ergebenden Verringerung der Adsorption des Ions, die bei Verwendung von Radioelementen durch Aktivitäts-

messung leicht festzustellen ist, die Komplexbildungskonstante berechnet werden. Hier sei nur ein einfacher Fall der Komplexbildung diskutiert: Das in sehr geringer Menge vorliegende radioaktiv markierte Kation M^{+m} bildet mit n Anionen A^{-a} einen neutralen oder negativ geladenen Komplex ($m - na \leq 0$):



Für die Komplexbildungskonstante gilt also:

$$K_c = \frac{[(MA_n)^{m-na}]}{[M^{+m}] \cdot [A^{-a}]^n}$$

Die Verteilung des markierten Kations zwischen Austauscher und Lösung kann durch die Größe

$$K_d = \frac{\text{Aktivität pro Gramm Austauscher}}{\text{Aktivität pro Volumen Lösung}}$$

angegeben werden. Mißt man nun die Verteilung des Radioelementes in Abwesenheit und dann in Anwesenheit des Komplexbildners — alle anderen Bedingungen (pH, Ionenstärke, Temperatur) werden konstant gehalten —, so erhält man Werte für K_d^0 bzw. K_d . Aus diesen Werten kann dann K_c berechnet werden:

$$K_c = \frac{K_d^0/K_d - 1}{[A^{-a}]^n}$$

Die Methode läßt sich auch auf komplizierte Komplexbildungsgleichgewichte ausdehnen^{52, 53}. So wurden im System Beryllium-Citrat die Komplexbildungskonstanten der drei Komplexe BeH_2Cit^+ , BeHCit^0 und BeCit^- bestimmt und überdies festgestellt, daß bei höheren pH-Werten mehrkernige Komplexe gebildet werden⁵³.

Bei der Untersuchung der Kinetik des Ionenaustausches, deren Kenntnis z. B. für die Ausarbeitung chromatographischer Methoden Bedeutung hat, haben radiochemische Methoden häufig Verwendung gefunden. Das gilt vor allem für die Messung von Austauschgeschwindigkeiten im Gleichgewicht, die überhaupt nur mit Hilfe von Isotopen möglich sind. Bei diesen Bestimmungen wurde ein mit Radioelement beladener Ionenaustauscher in eine inaktive Lösung gebracht, die in chemischer Hinsicht die gleiche Zusammensetzung aufwies, wie die Lösung die mit dem beladenen Austauscher vorher im Gleichgewicht gewesen war. Die Geschwindigkeit des Austausches gegen die gut gerührte Lösung konnte dann durch Aktivitätsmessung an kleinen, der Lösung entnommenen Proben verfolgt werden. Die Messung der Austauschgeschwindigkeit im Gleichgewicht hat den Vorteil, daß während des Versuches keine störenden Änderungen im System stattfinden, z. B. bleiben der Quellungsgrad des Austauschers und die Konzentration aller gelösten Stoffe konstant. Nach dieser Methode wurden die Austauschgeschwindigkeiten verschiedener Ionenarten untersucht und verschiedene Austauschermodifikationen miteinander verglichen^{54, 55}.

Im Zusammenhang mit der Chromatographie an Ionenaustauschersäulen sei noch auf die Bedeutung einer Kenntnis der Austauschgeschwindigkeiten zwischen freien Ionen und den komplex gebundenen Formen hingewiesen. Als Elutionsmittel bei der Chromatographie kommen nur Komplexe mit großer Austauschgeschwindigkeit in Frage. Diese Geschwindigkeiten können mit Hilfe von Radioelementen in einfacher Weise gemessen werden. Man kann z. B. eine Lösung des Komplexes mit einer Lösung der freien Ionen in markierter Form mischen und dann nach verschiedenen Zeiten aus aliquoten Teilen der Lösung die freien Ionen durch geeignete Methoden abtrennen. Die Abnahme der spezifischen Aktivität zeigt dann an, wie schnell der Austausch vor sich geht.

Zusammenfassung.

Einleitend wird auf die Faktoren hingewiesen, die für die Eignung radioaktiver Stoffe zur Untersuchung der physikalisch-chemischen Grundlagen der Analyse maßgebend sind: Empfindlichkeit und Einfachheit des Nachweises, Gelegenheit zu zerstörungsfreien Untersuchungen und Unterscheidbarkeit zwischen „radioaktiv markierten“ und chemisch gleichartigen, aber inaktiven Stoffen. Die Bedeutung der Radiochemie

für die Theorie der chemischen Analyse wird durch die Besprechung von Studien verschiedener Vorgänge — Fällung und Mitfällung, Adsorption an Niederschlägen, Gefäßwänden und Filtermedien, Verteilung zwischen flüssigen Phasen und Austausch an Ionenaustauschern — aufgezeigt.

Literatur.

- ¹ E. Broda und T. Schönfeld, Radiochemische Methoden der Mikrochemie, in: Handbuch der mikrochemischen Methoden. Hrsg. von F. Hecht und M. K. Zacherl, Band II. Wien: Springer Verlag 1955.
- ² E. Broda und T. Schönfeld, *Chimica et Industria* (1955, im Druck).
- ³ H. Götte, *Mikrochim. Acta* [Wien], 1955, im Druck.
- ⁴ G. Hevesy und F. Paneth, *Z. anorg. Chem.* **82**, 323 (1913).
- ⁵ B. N. Cacciapuoti und F. Ferial, *Ann. chim. applicata* **29**, 166 (1939).
- ⁶ F. Paneth, *Z. Elektrochem.* **28**, 113 (1922).
- ⁷ F. Paneth und W. Vorwerk, *Z. physik. Chem.* **101**, 445, 480 (1922).
- ⁸ F. Paneth, *J. chim. phys.* **45**, 205 (1948).
- ⁹ I. M. Kolthoff und C. Rosenblum, *J. Amer. Chem. Soc.* **58**, 116 (1936).
- ¹⁰ F. Paneth und W. Thimann, *Ber. dtsch. chem. Ges.* **57**, 1215 (1924).
- ¹¹ I. M. Kolthoff und C. Rosenblum, *J. Amer. Chem. Soc.* **55**, 2656 (1933); **56**, 1264, 1658 (1934); **57**, 597, 607 (1935); **58**, 116 (1936).
- ¹² I. M. Kolthoff und F. T. Eggertsen, *J. Amer. Chem. Soc.* **62**, 2125 (1940); **63**, 1412 (1941).
- ¹³ O. Hahn, *Applied Radiochemistry*. Ithaca: Cornell 1936.
- ¹⁴ N. A. Bonner und M. Kahn, in: *Radioactivity Applied to Chemistry* (Hrsg. von A. C. Wahl und N. A. Bonner). New York: Wiley. 1951.
- ¹⁵ E. Broda und T. Schönfeld, Radiochemische Methoden der Mikrochemie, in: Handbuch der mikrochemischen Methoden. Hrsg. von F. Hecht und M. K. Zacherl, Band II. Wien: Springer-Verlag. 1955. S. 40 bis 50.
- ¹⁶ H. Doerner und W. Hoskins, *J. Amer. Chem. Soc.* **47**, 662 (1925).
- ¹⁷ W. Chlopin, *Z. anorg. Chem.* **148**, 97 (1925).
- ¹⁸ W. Chlopin und B. Nikitin, *Z. anorg. Chem.* **166**, 311 (1927).
- ¹⁹ W. Chlopin und A. Polessitzky, *Z. anorg. Chem.* **172**, 310 (1929).
- ²⁰ W. Chlopin, A. Polessitzky und P. Tolmatschew, *Z. physik. Chem., Abt. A* **145**, 57 (1929).
- ²¹ W. Chlopin und A. Polessitzky, *Z. physik. Chem., Abt. A* **145**, 67 (1929).
- ²² W. Chlopin, *Ber. dtsch. chem. Ges.* **64**, 2653 (1931).
- ²³ N. Riehl und H. Käding, *Z. physik. Chem., Abt. A* **149**, 180 (1930).
- ²⁴ R. Mumbrauer, *Z. physik. Chem., Abt. A* **156**, 113 (1931).
- ²⁵ H. Käding, *Z. physik. Chem., Abt. A* **162**, 174 (1932).
- ²⁶ A. H. Booth, *Trans. Faraday Soc.* **47**, 633, 640 (1951).
- ²⁷ A. Lottermoser, *J. prakt. Chem.* **72**, 39 (1905); **75**, 374 (1906).
- ²⁸ L. Imre, *Z. physik. Chem., Abt. A* **158**, 127 (1931).
- ²⁹ O. Hahn, *Ber. dtsch. chem. Ges.* **59**, 2015 (1926).
- ³⁰ F. Paneth, *S. B. Wien. Akad. Wiss.* **123**, 2349 (1914).
- ³¹ K. Fajans und T. Erdey-Grúz, *Z. physik. Chem., Abt. A* **158**, 97 (1932).
- ³² M. H. Kurbatov, Fu-Chun Yu und J. D. Kurbatov, *J. Chem. Physics* **16**, 87 (1948).
- ³³ M. H. Kurbatov, *J. Amer. Chem. Soc.* **71**, 858 (1949).
- ³⁴ K. Horowitz und F. Paneth, *S. B. Wien. Akad. Wiss.* **123**, 1819 (1914).
- ³⁵ H. Leng, *S. B. Wien. Akad. Wiss.* **136**, 19 (1927).
- ³⁶ J. W. Hensley, A. O. Long und J. E. Willard, *Ind. Eng. Chem.* **41**, 1415 (1949).
- ³⁷ A. O. Long und J. E. Willard, *Ind. Eng. Chem.* **44**, 916 (1952).
- ³⁸ T. Schönfeld und E. Broda, *Mikrochem.* **36/37**, 485 (1951).
- ³⁹ T. Schönfeld und S. Neumann, *Mh. Chem.* **85**, 921 (1954).
- ⁴⁰ J. W. Hensley, *J. Amer. Ceram. Soc.* **34**, 188 (1951).
- ⁴¹ G. G. Joris und H. S. Taylor, *J. Chem. Physics* **16**, 45 (1948).
- ⁴² C. Black, G. G. Joris und H. S. Taylor, *J. Chem. Physics* **16**, 537 (1948).
- ⁴³ E. B. Sandell, *Colorimetric Determination of Traces of Metals*, 2. Aufl. New York: Interscience. 1950.
- ⁴⁴ E. F. Huffman und L. J. Beaufait, *J. Amer. Chem. Soc.* **71**, 3179 (1949).
- ⁴⁵ J. Rydberg, *Acta Chem. Scand.* **4**, 1503 (1950).
- ⁴⁶ D. Dyrssen und B. Hök, *Svensk Kem. Tidskr.* **64**, 80 (1952).
- ⁴⁷ G. E. Boyd, J. Schubert und A. W. Adamson, *J. Amer. Chem. Soc.* **69**, 2818 (1947).
- ⁴⁸ B. Soldano, *J. Amer. Chem. Soc.* **77**, 1334 (1955).
- ⁴⁹ J. Schubert, *J. Physic. Coll. Chem.* **52**, 350 (1948).
- ⁵⁰ J. Schubert, E. R. Russell und L. S. Myers, *J. Biol. Chem.* **185**, 387 (1950).
- ⁵¹ J. Schubert und A. Lindenbaum, *J. Amer. Chem. Soc.* **74**, 3529 (1952).
- ⁵² S. Fronaeus, *Acta Chem. Scand.* **5**, 859 (1951).
- ⁵³ J. Feldman, T. Y. Toribara, J. R. Havill und W. F. Neuman, *J. Amer. Chem. Soc.* **77**, 878 (1955).
- ⁵⁴ G. E. Boyd und B. A. Soldano, *J. Amer. Chem. Soc.* **75**, 6091, 6099, 6105, 6107 (1953).
- ⁵⁵ G. E. Boyd, B. A. Soldano und O. D. Bonner, *J. Physic. Chem.* **58**, 456 (1954).

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/84.

Zeilenanzahl: 1293.

La chromatographie quantitative sur papier, technique typiquement microchimique.

Par

A. Lacourt, Bruxelles.

Avec 11 figures.

(Reçu le 1er juin 1955.)

La notoriété acquise par la *microchimie* au cours de ces dix dernières années lui vient du rôle qu'elle a joué dans le développement des sciences nucléaires. A côté de ce palmarès déjà important, il faut encore signaler son intervention dans des découvertes sensationnelles telles que celles des antibiotiques, dans l'établissement des diagnostics sur base scientifique, dans l'explication des maladies de carence des plantes et des animaux, dans l'identification et le repérage des fraudes en art, en criminologie, en pharmacie, ainsi que dans la fixation de l'âge des terrains, de leurs fossiles et celui de la terre.

Plusieurs sciences, comme la paléobiologie, la géobiochimie et la géophysique, la nucléobiologie ne seraient pas nées sans l'aide de la *microchimie*. Son intervention marque une époque dans l'histoire des sciences, partout où le rôle de petites quantités d'éléments est prédominant.

Vers la fin du 19e siècle, aucun progrès n'était plus possible dans les voies biochimiques et biologiques faute de disposer de techniques permettant de manipuler, de purifier et d'identifier (analyses qualitative et quantitative) des quantités de substances de l'ordre de quelques milligrammes comme il en était couramment isolé dans ces recherches.

Cette carence technique et l'urgente nécessité d'y mettre fin par de nouvelles mises au point fut signalée officiellement par *Frédéric Emich* vers 1899¹. Au moment de cette déclaration, il avait lui-même suffisamment expérimenté à échelle réduite pour se rendre compte que les manipulations sur des quantités de l'ordre du mg et du μ g ne sont pas possibles par simple réduction des dimensions instrumentales ou des prises; que les propriétés des corps à cette échelle deviennent relatives et parfois très différentes de ce qui est admis couramment à l'échelle classique de travail, que des interférences insoupçonnées en chimie pratique classique prennent ici une importance prédominante, bref que les méthodes microchimiques répondent à des critères spéciaux.

La *microchimie*, pour *Emich*, n'est donc pas uniquement un travail chimique à une échelle réduite, mais bien un travail se développant sur des principes absolument différents de ceux généralement admis dans le travail classique.

Le caractère original et spécial du travail microchimique est mis en évidence par chacune de ses techniques lorsqu'elles sont parfaitement mises au point. Ce caractère original est trop souvent méconnu et omis, de même que l'attitude d'esprit particulière qu'il est nécessaire de posséder pour aborder la mise au point de problèmes nouveaux.

La chromatographie sur papier est l'une des techniques microchimiques fécondes, dont les principes sont établis dans cet esprit nouveau. Elle démontre par des faits la réalité de la conception d'*Emich* et la richesse apportée à la technique par l'originalité des initiatives des microchimistes.

La *chromatographie sur papier* s'est développée assez récemment (1941) à l'occasion de la séparation des acides aminés et sur la base de constatations antérieures relativement anciennes. *F. F. Runge*² a observé vers 1850 que les corps déposés sur le papier ou d'autres fibres, lavés par

un solvant, sont entraînés à des vitesses différentes par ce dernier. C'est de ces observations tombées dans l'oubli pendant près d'un siècle que *Conden, Gordon et Martin*³ se sont servi pour concevoir leur procédé de séparation chromatographique des acides aminés en partant de 500 microgrammes de protéines.

Cette technique a été développée de manière à être applicable à tous les cas aussi bien comme moyen de *préparation*, de *détection qualitative*, que de *dosage quantitatif* à l'échelle de travail du milligramme et du microgramme, tant pour des substances organiques que pour des substances inorganiques.

L'absence de base scientifique et le nombre croissant d'applications de la chromatographie sur papier a été un élément de perturbation dans les esprits classiques. Les uns se sont rapprochés au *partage*, d'autres à l'*adsorption*, d'autres encore à l'*échange d'ions* pour donner une apparence d'explication classique à leur technique. Il est certain à présent que ce qui se passe dans le papier en chromatographie est beaucoup plus complexe que ce les premiers chercheurs ont entrevu et qu'il y a place pour de nombreuses études théoriques avant d'être en mesure de prévoir les conditions d'un bon chromatogramme dans un cas inconnu.

Des forces physiques et chimiques travaillent ensemble ou en compétition pour donner le résultat: le chromatogramme.

Le *papier*, les *solvants* et la *solution* déposée jouent chacun un rôle pour obtenir ce résultat, basé essentiellement dans le cas de séparations sur l'établissement de *différences de vitesse de migration* entre les éléments à séparer à la surface du papier.

L'établissement de ces vitesses de migration se fait encore par approximations successives, en se basant sur des expériences antérieures et sur un nombre limité de principes plus empiriques que scientifiques. Il constitue l'essentiel d'une mise au point d'une séparation chromatographique nouvelle. Pour définir expérimentalement les facteurs d'interférence sur ces vitesses, il convient de serrer de très près les conditions expérimentales et de *comparer* aussi objectivement que possible les résultats des expériences en se servant de références bien définies. C'est dans cette attitude d'esprit constamment *comparative* que l'on trouve l'essentiel de cet état d'esprit du microchimiste. Pour lui, rien n'est absolu dans ses mesures, sinon le résultat final, sa méthode de travail n'a rien analytique nide classique. Par ces critères, la chromatographie sur papier s'intègre absolument dans la microchimie.

I. Le papier filtre — agent séparateur.

Sans vouloir retracer l'histoire de la chromatographie sur papier, il n'est peut-être pas superflu de rappeler que les promoteurs des séparations des acides aminés³ recherchaient un support plus homogène que le silicagel et capable de receller une très grande quantité d'eau. Le papier filtre répondait à ces exigences, et dans leur esprit, et grâce à celui-ci, le développement chromatographique des acides aminés basé sur leurs coefficients de partage différents devait être possible. On a montré par la suite que la concordance entre le coefficient de partage et la vitesse de migration des acides aminés dans le papier est fortuite et que les lois de l'adsorption pourraient aussi bien convenir pour expliquer cette concordance.

Toutefois, la nature même du papier, son hétérogénéité auraient été des obstacles à son choix comme séparateur par un chimiste classique. L'eau du papier est certainement un élément très actif dans la chromatographie et des faits expérimentaux d'observation peuvent être cités à l'appui. On a notamment observé des migrations dans le papier, après avoir noté la position du front liquide et des taches lorsque celui-ci avait été abandonné à l'air libre pendant plusieurs jours par temps humide (Fer, Titane).

Certains éléments d'autre part migrent mieux lorsque la prise est développée humide et pour certains éléments un conditionnement en un degré donné d'humidité donne de meilleures taches et de meilleures séparations. Pour le cobalt et le zinc, un papier conditionné à 52% d'humidité donne une meilleure séparation d'avec le cuivre que condi-

tionné à 76% ou non conditionné⁴. (voir Fig. 1).

Papier conditionné à 52% d'humidité (1 cm × 25).

Cobalt	Cuivre	Zinc	10 µg
30 108	118 150	260 275	mm à partir du haut de la bandelette

Papier conditionné à 76% d'humidité (1 cm × 25)

30—33 85—103	120—125 132—150	140—165 180—200	mm à partir du haut de la bandelette
-----------------	--------------------	--------------------	--------------------------------------

Le cadmium, le plomb, l'uranium, le bore se comportent de façon semblable⁵ selon que l'on sèche ou développe la prise humide.

Pour le tungstène, le chrome, le vanadium, le molybdène, l'aluminium et le titane, c'est l'inverse, il faut sécher la prise et travailler sur du papier conditionné au minimum d'humidité, c'est-à-dire séché sur anhydride phosphorique. Le tableau suivant donne les grandeurs des taches de ces éléments développés dans ces conditions identiques⁵.

Papier conditionné 95% d'humidité (PO₄HNa₂, I₂H₂O) (1 cm × 25).

Tungstène	Chrome + Vanadium	Molybdène	10 µg
0/0/0 12/12/12/	23/24/28 72/70/77	109/105/127 136/136/154	mm à partir du dépôt

Papier conditionné sur anhydride phosphorique (1 cm × 25)

0/0/0 12/12/12	24/23/28/24 63/62/62/61	114/109/117/111 143/136/144/140	mm à partir du dépôt
-------------------	----------------------------	------------------------------------	----------------------

L'opacité du papier varie selon son degré d'humidité; il devient plus opaque en séchant et lorsque cette opacité est mesurée, celle-ci change au cours même de la mesure et d'autant plus, que le conditionnement es plus différent de l'état hygrométrique de l'atmosphère. Il s'agit donc de sortir le papier de ■■ cuve de conditionnement immédiatement avant des mesurer son opacité, de manière à obtenir un maximum de reproductibilité (Fig. 2 et 3).

Etant donné le rôle de l'eau dans certaines chromatographies et le fait que le papier en recèle de grandes quantités, il est important de tenir compte de la quantité employée au moment de la mise au point de la méthode chromatographique de séparation. C'est par exemple le cas pour la séparation cobalt/cuivre/zinc⁴. Dans cette séparation, un excès de papier ou une disposition asymétrique des huit bandelettes donnent lieu à des anomalies. L'eau du papier peut hydrolyser certains produits au cours de leur chromatographie, si bien que l'on dispose là d'un moyen de mettre ces produits en évidence. C'est ainsi pour l'acétate de plomb ou d'ammoniaque. Dans ce dernier, l'ammoniaque est plus adsorbé par le papier que l'acide acétique et forme un cercle intérieur coloré en bleu par le tournesol⁷.

Le manque d'homogénéité du papier apparaît par photométrie.

Pour un même conditionnement deux bandelettes identiques taillées dans du papier en feuilles ou en ruban, montrent des différences — moins grandes — pour les rubans. Ce fait a sa répercussion sur la localisation et la grandeur des taches chromatographiées.

Localisation et grandeur des taches de cobalt chromatographié sur papier conditionné à 52% d'humidité.

Concentration µg	Volume ml	Mesure des taches de Cobalt en mm			
		sur feuilles mm	différence mm	sur rubans mm	différence mm
3	0,003	40/72 (1er J)	32	40/65—40/66	25/26
		37/70 (2d J)	33	40/67—40/66	27/26
				40/67—40/65	27/25
1	0,005	40/88 (1er J)	48	40/70—40/71	30/31
		37/70	33	40/72—40/72	32/32
				40/71—40/69	31/29

Ceci montre que les taches sur rubans de papier sont plus petites et plus régulières que sur feuilles.

A côté de l'eau, le papier contient encore des matières minérales et organiques. Celles-ci créent des difficultés lorsqu'il s'agit d'identifier ou de doser l'une d'elles sur le papier dans une tache de solution. Pour que la réponse soit certaine et représente l'image exacte de l'échantillon, compte tenu des contaminations du papier, il est nécessaire qu'intervienne cette attitude spécialement microchimique et essentiellement comparative.

Le chimiste classique doserait avec autant de précision que possible chacune des interférences. Le microchimiste cherche à préciser dans quelles limites ces erreurs interviennent d'un façon globale dans le résultat et dresse un diagramme de sensibilité avec des références connues prises dans les mêmes conditions. Tout son travail sera dès lors une comparaison avec ce diagramme de référence.

On peut voir plus loin que cette manière de travailler rend possible la chromatographie quantitative sur papier, au même degré d'approximation que par les méthodes classiques. Les interférences ne jouent plus aucun rôle.

Nous avons signalé plus haut la différence provoquée par l'emploi de rubans de papier au lieu de bandelettes taillées dans des feuilles.

La qualité du papier a été expérimentée pour quinze papiers différents par G. N. Kowkabany⁸ et affecte de façon notable le R_f des acides aminés notamment.

La forme selon laquelle le papier est taillé pour la chromatographie a également son importance au point de vue de R_f et de la forme des taches. Il faut respecter une certaine proportionnalité entre la largeur du papier au dépôt et le volume de solution déposé.

Une disproportion entraîne des déformations des taches chromatographiées surtout si elles sont développées humides. Dans toutes nos mises au point nous avons employé des bandelettes de 1 cm de large et de 20 ou 25 cm de long et des prises de 0,01 ml.

Nous ne parlerons pas des papiers traités⁹ ou recouverts d'enduits car nous considérons que cela sort du cadre de la chromatographie sur papier. Tout ce qui vient d'être dit confirme bien le fait que le choix du papier comme séparateur eut été impensable par un chimiste analyste ou autre.

II. L'ordre de grandeur des quantités chromatographiées.

D'après F. Feigl (p. 591)⁷ dans les processus chromatographique sur papier ou sur colonne, il y se constitue des associations avec les matières composant le chromatogramme, avec le solvant et le support. Les conditions d'obtention d'un bon chromatogramme dépendent donc de nombreuses variables et les principes conducteurs permettant de prévoir ces conditions sont difficiles à découvrir.

La concordance trouvée entre les coefficients de partage des acides aminés développés sur papier et leur vitesse de migration a fait croire un moment que le partage était à la base des séparations chromatographiques sur papier. Mais le fait que des séparations réussies se font avec des solvants solubles¹⁰ dans l'eau et que les lois de l'adsorption et celles du partage ont des modes d'expression similaires, ajoutés à la multitude de preuves que des phénomènes d'adsorption et d'échange d'ions participent à ces séparations, ont rendu les chercheurs un peu moins catégoriques.

Ce sont autant d'inconnues en plus qui s'ajoutent aux précédentes pour rendre encore moins prévisible la solution de problèmes inconnus.

Certains auteurs ont étudié les phénomènes se passant à la surface du papier filtre lorsqu'on y dépose une goutte de solution, tel que l'on procède en chromatographie sur papier. Si la matière est adsorbée, cela correspond à une précipitation et le chromatogramme tout entier peut être comparé à une précipitation fractionnée régie par les affinités d'adsorption diverses des différents composants de la solution. Le développement consiste alors en une désorption et une réadsorption continue des particules déposées et dissoutes, qui se fixent ou se déplacent selon la

valeur de leurs forces d'adsorption en compétition avec celle du solvant en très grand excès. Cela se passe à l'échelle de la molécule et de l'ion, d'où il résulte que les quantités de matière intervenant sont très petites en relation avec une capacité limite du papier au delà de laquelle plus rien ne se fixe et où l'excès non fixé passe outre.

La largeur, la longueur et l'épaisseur de papier jouent évidemment un rôle dans la fixation de cette capacité limite. Une séparation bien mise au point peut devenir très mauvaise si la capacité limite est dépassée. Nous donnons comme exemple ci-dessous la séparation du cobalt, du cuivre et du zinc. La languette de 2 cm de large est capable de séparer encore parfaitement 30 μg d'éléments contenus dans 0,003 ml. Au delà, la séparation n'existe plus (voir Fig. 7). Ce fait, ajouté à la solubilité de la substance et à la capacité d'imbibition du papier va limiter plus ou moins la quantité de matière susceptible d'être développée sur une largeur de papier donnée. Elle impose ainsi l'obligation pour l'analyse d'une solution inconnue, de travailler avec le volume qui a servi à l'établissement des conditions chromatographiques standard, surtout si la prise se développe humide.

Là où la prise se développe après dessiccation, il semble que l'on arrive moins vite à saturation. Ceci est l'indication que ce processus chromatographique fonctionne sur une base différente. En apportant des volumes successifs et en séchant la prise chaque fois, de 10 à 500 μg d'aluminium ont été parfaitement développés sur une bandelette de 1 cm de large, sans entraver le développement du fer et du titane présents dans la même solution. Les grandeurs des taches d'aluminium ont été respectivement à la limite: $A/C = 0,00$ et $B/C = 0,24$ pour 10 μg et 0,00 à 0,32 pour 500 μg * c'est-à-dire sans relation avec les concentrations déposées.

* A/C et B/C sont des rapports fixant la position des taches (Tête-queue) pour un front liquide de 100 mm¹².

Nous avons cherché à nous rendre compte si réellement la teneur ou le volume influençaient la grandeur de la tache et sa position, et la réponse en est donnée par la mesure de taches d'uranium chromatographiées (prises séchées).

Influence de la quantité dissoute sur la grandeur des taches.

Contaminant: benzène; Developpant: acétone + 5% v/v HCl conc.
vol.: 0,01 ml; durée de dévelop.: 75 à 175 minutes¹¹.

Uranium.

100 μg		80 μg		60 μg		50 μg		40 μg		20 μg	
A/C	B/C	A/C	B/C	A/C	B/C	A/C	B/C	A/C	B/C	A/C	B/C
0,34	0,75	0,36	0,70	0,33	0,63	0,40	0,58	0,37	0,62	0,38	0,65
0,37	0,71	0,35	0,70	0,35	0,65	0,41	0,71	0,39	0,63	0,39	0,61
0,39	0,60	0,38	0,63	0,37	0,63	0,38	0,60	0,38	0,59	0,37	0,59
0,40	0,65	0,35	0,65	0,42	0,72	0,42	0,70	0,44	0,66	0,42	0,67
0,40	0,67	0,42	0,71	0,44	0,70	0,51	0,75	0,50	0,77	0,47	0,66

D'où il résulte que si la prise déposée sur papier est séchée, la concentration a peu d'influence sur la grandeur et la position d'une tache chromatographiée.

La limite supérieure des quantités développables en chromatographie est de l'ordre du milligramme, mais la limite inférieure peut descendre en dessous du microgramme. En fait, si elle dépend du processus chromatographique, elle est tributaire aussi des moyens dont on dispose pour localiser les taches.

Il existe des réactifs ultra sensibles développant des couleurs. Leur sensibilité est parfois accrue plusieurs dizaines de fois, du fait de leur emploi sur papier. Ils décèlent parfois moins de 0,001 de μg . La sensibilité de détection des matières organiques est fréquemment moins grande.

La fluorescence propre ou provoquée, la radioactivité sont des moyens qui permettent de localiser des quantités encore plus petites.

Tout est cependant *relatif* et *comparatif* à la surface du papier car l'intensité d'une coloration dépend de la manière dont le dépôt a été fait, évaporé, vaporisé de réactif ainsi que de la nature des éléments accompagnant l'élément à identifier.

Si l'un des éléments à identifier est parmi les contaminations du papier, la comparaison avec un test pilote, un blanc, une référence connue s'imposent avant de tirer des conclusions valables.

De toutes façons, cette manière de travailler est spécifiquement réservée aux micro-quantités et non extrapolable à l'échelle normale.

III. Le travail comporte une accélération sensible par rapport aux techniques classiques.

La technique d'analyse *qualitative* de F. H. Pollard et McOmie⁹ permet d'analyser en 3 heures une solution renfermant soit 32 cations soit 28 anions minéraux en partant d'un échantillon de 50 mg.

La séparation fer, aluminium, titane prendrait à l'échelle courante une semaine; à l'échelle du microgramme, elle se fait en l'espace de 3 à 5 heures⁵.

La durée des séparations minérales est beaucoup plus réduite que celles des substances organiques. Mais même dans ce dernier cas, il y a un gain de temps considérable sur ce que serait une séparation basée sur les différences de solubilité. Cela est surtout évident dans le cas de composés chez lesquels les fonctions sont très voisines et plus encore pour ceux chez lesquels les fonctions sont absentes ou neutralisées.

Pour certaines de ces séparations, la chromatographie est la seule possibilité.

Tableau de quelques durées de séparations chromatographiques.

Organique ¹⁰		Inorganique	
Créatine/Créatinine, 10 μ g	24 h.	Molybdène/vanadium/fer 1 à 10 μ g	160 min. ¹⁴
Esters phosphoriques des sucres — 3 micromoles	15 h.	Molybdène/vanadium + chrome/fer — 10 μ g	320 min. ¹⁴
Sucres — 3 μ g	18 h.	Tungstène/vanadium + chrome/molybdène/fer — 10 μ g	320 min. ¹⁵
Acides malique, tartrique critique — 5 à 20 μ g	30 h.	Silicium/bore/molybdène — 10 μ g	35 min. ¹⁶
Phénols — 5 μ g	15 h.	Aluminium/fer/titane — 1 à 10 μ g	240 min. ⁵
Lignées — 16 h.	16 h.	Aluminium/uranium/fer — 1 à 100 μ g	75 min. ¹¹
Amines arom., 1 à 200 μ g	5 h.	Cobalt/cuivre/zinc — 0,1 à 10 μ g	45 min. ⁴
Vitamine B 12	72 h.		
Alcaloïdes de l'Ergot — 5 à 10 μ g	15 h.		
Pénicilline (humid. const.)	(4 à 5 h.)		
Flavine-Nucléotides — 0,01 μ g			

IV. La chromatographie sur papier comporte des amplifications.

Il y a des corps luminescents comme certains dérivés de la coumarine ou fluorescents comme les acides aminés, les sels d'uranium ou de zinc. Dans ces cas particuliers, leur localisation dans le papier peut se faire jusqu'à des limites très basses (0,001 μ g pour les sels d'uranium). Pour les composés radioactifs, la limite est encore plus basse. Mais pour tous les autres composés minéraux et organiques incolores, la limite d'identification dépend d'une réaction qui produit une coloration intense stable à la surface du papier.

La sensibilité de l'identification par ce procédé implique en quelque sorte une amplification. Souvent, les réactions employées ne sont pas réalisables en solution alors qu'elles sont nettes sur papier. Cette sensibilité dépend donc de la façon d'opérer; elle n'est pas *absolue*, elle est *relative*. Nous citerons à ce propos l'exemple donné par Feigl, selon lequel le diméthyl-glyoxime employé sur papier pour identifier le nickel est 1900 fois plus sensible qu'en solution.

Ce sont bien deux caractères microchimiques également, que cette relativité de la sensibilité et cette amplification des tests.

Les identifications organiques sont en général moins sensibles que les minérales, mais peuvent descendre à la limite jusqu'à des fractions de microgramme. Le tableau ci-dessous donne un aperçu de quelques unes de ces valeurs:

Sensibilité de quelques réactifs microchimiques employés dans l'identification.

	des corps organiques ¹⁷	µg
Acétone	Guajacol dialdehyde	0,2
Acide ascorbique	Reduction du bioxyde de Mn	0,03
	Ninhydrine	10,0
Hydrates de carbone ...	Réduction de l'oxyde d'argent	0,1
Chloroforme	Conversion en cyanure alcalin	16,0
Acide formique	Conversion en formaldéhyde	1,4
Glycerine	Conversion en acroléine	5,0
Alcool méthylique	Conversion en formaldéhyde	3,5
Acide malique	β naphthol et acide sulfurique	10,0
Tyrosine	α nitroso β naphthol	0,05
	des corps inorganiques ¹⁷	µg
Aluminium	Quinalizarine	0,005
Bismuth	Luminescence	0,004
Cadmium	Iodure de dipyrindyle	0,005
Cuivre	Acide rubéanique	0,006
	Diethyldithiocarbamate de zinc	0,002 *
Hydrazine	p-diméthylaminobenzaldehyde	0,001
Mercreure	Catalyse d'alumine	0,0001
Uranium	Fluorescence	0,001

Le tableau suivant permet quelques comparaisons de sensibilité de réactions effectuées en solution et sur papier.

Sensibilité de quelques réactifs microchimiques.

Cation	Réactif	Couleur de la réaction	Sensibilité en µg	
			Stillirréaction	Chromato-graphie
Fe ⁺⁺⁺	[Fe(CN) ₆] ⁴⁻	bleu	0,04	0,01
Cu ⁺⁺	[Fe(CN) ₆] ⁴⁻	brun-rouge	—	0,02
Cu ⁺⁺	H ₂ S	brun-noir	—	0,4
Cu ⁺⁺	Thio-oxamide + + NH ₃	noir	0,006	0,005
Co ⁺⁺	(NH ₄) ₂ S	brun-noir	—	0,2
Ni ⁺⁺	(NH ₄) ₂ S	vert-noir	—	0,3
Ti ⁺	(NH ₄) ₂ S	noir	—	1,0
Ti ⁺	KI	jaune	0,6	0,12
UO ₂ ⁺⁺	[Fe(CN) ₆] ⁴⁻	jaune pâle	0,92	0,45
Ag ⁺	(NH ₄) ₂ S	noir	—	1,0
Ag ⁺	Mn ⁺⁺ + OH ⁻	noir	2,0	0,11
Pb ⁺⁺	(NH ₄) ₂ S	noir foncé	—	0,54
Pb ⁺⁺	CrO ₄	jaune	—	0,54
Cd ⁺⁺	(NH ₄) ₂ S	jaune	—	0,54

Nous attirons toutefois l'attention sur la relativité de ces données qui ne sont valables que pour des conditions opératoires bien définies par les auteurs, pour une concentration de réactif dissous dans un solvant, un mode et une durée de dessiccation, une manière de vaporiser.

Des facteurs qui, aux yeux d'un chimiste classique pourraient passer comme sans intérêt, peuvent compromettre le résultat d'une très belle séparation chromatographique. La séparation du cobalt, du cuivre et du zinc est fortement influencée par la teneur en eau de tous les réactifs et du papier.

Réalisée dans des conditions standart, la révélation donne lieu à une diffusion complète des taches, si on utilise l'acide sulfhydrique et l'ammoniac complètement desséchés, comme si aucune séparation n'avait eu lieu¹⁸.

On n'insistera jamais assez sur l'importance de la qualité des révélations qualitatives, d'abord parce que c'est d'elles que se déduisent les R_f et les A/C et B/C et que des déductions théoriques peuvent être complètement faussées des suites d'une mauvaise révélation. Ensuite, tout le travail quantitatif dépend de la localisation des taches.

Pour donner plus de garantie au travail, il est recommandable de localiser les taches d'un chromatogramme par un réactif aussi universel que possible et de mesurer les taches individuelles à l'aide d'un réactif plus spécifique.

V. Les différences de vitesse de migration des éléments constituent la base du travail chromatographique.

Pour connaître ces vitesses de migration, il a fallu s'adresser à des éléments ayant une couleur propre et dont les déplacements pouvaient se suivre visuellement, sans vaporisation ou traitement quelconque. On aurait également pu suivre le déplacement d'éléments radioactifs.

L'opérateur a chronométré le temps en secondes pour que le front du solvant, la tête et la queue de la tache d'élément franchissent un espace donné entre deux traits sur le papier.

Solution de cations 50% v/v HCl conc.		Fer (µg)			Cuivre (µg)		
		50	60	70	50	60	70
		secondes					
F	CH ₃ OH						
T	Développant	585	585	585	1005	1080	990
Q		720	720	720	1620	1830	1620
		1620	1620	1620	2970	2520	3300
F	H-COOH	690	735	690	1050	960	1020
T		1200	1200	1200	1350	1350	1350
Q		1800	1800	1800	2100	1920	2100
F	H ₂ O bidist.	765	765	765	720	510	600
T		945	960	915	900	600	—
Q		1380	1110	1380	1125	855	990

Comportement du nickel, cobalt, cuivre vis-à-vis des développants organiques purs¹⁰.

S = D

Développant	Durée min.	Nickel		Cobalt		Cuivre		Séparations		
		A/C*	B/C*	A/C	B/C	A/C	B/C	Ni/Co	Co/Cu	Ni/Cu
Dioxane	60	0	7	0	18	0	94			
		0	7	0	19	0	98			
Méthylal	60	0	17	0	13	28	50	+	+	
		0	16	0	13	27	50	+	+	
Acétone	30	0	13	0	13					
	60	0	13	0	15					
Méthyléthyle	45	0	8	0	19	21	39	+	+	
cétone		0	8	0	19	21	39	+	+	
Chloroforme	60	0	9	0	10	0	8			
		0	10	0	7	0	8			
Benzène	60	0	8	0	7	0	8			
		0	9	0	7	0	7			
Toluène	45	0	5	0	5	0	7			
		0	6	0	6	0	8			
Mét(OH)	30	71	100	75	100	80	97			
		69	100	74	100	75	97			
	60	67	80	70	85					
	60	69	97	77	100	81	90			
		76	98	74	100	77	91			
	60	68	94	72	100	76	83			
		71	93	65	100	72	91			
Éth(OH)	60	7	55	13	64	22	64			
		7	54	11	62	22	64			
Prop(OH)	60	0	27	0	21	0	25			
		0	25	0	24	0	25			
Iso-prop(OH)	60	0	16	0	17	0	18			
		0	18	0	20	0	21			
	120	0	11	0	10	0	11			
		0	12	0	10	0	11			
	240	0	10	0	7	0	7			
		0	7	0	7	0	7			
But(OH)	120	0	13	0	100	0	95	Dispersion anormale Co, Cu		
		0	12	0	100	0	98			
Amyl(OH)	120	0	16	0	14	0	15			
		0	19	0	13	0	14			
HCOOH	30	72	100	75	99					
		79	91	75	87					
		80	90	79	89					

* Les valeurs des R_f sont obtenues en divisant ces chiffres par 100.

Le tableau suivant indique que cette *vitesse de migration est spécifiquement propre à l'élément* et indépendante, dans les limites expérimentées, de la concentration. Il indique aussi que cette vitesse est fortement influencée par les conditions d'expériences et notamment par le choix du solvant assurant la migration¹⁸.

On peut donc parler de vitesse de migration spécifique pour un élément mais cela n'est que dans conditions expérimentales bien établies. Ceci est typiquement un caractère du travail microchimique.

Ces vitesses de migration sont tellement dépendantes des conditions opératoires (*relatives*) que l'on a pu repérer des *facteurs extérieurs* susceptibles d'agir sur ces vitesses de migration et qui permettent d'améliorer certaines fois des chromatogrammes et les séparations quantitatives.

Onze *facteurs externes* ont été repérés jusqu'ici comme susceptibles de modifier les vitesses de migration en chromatographie. Ils sont évidemment cités en relation avec un ou des éléments; il ne faut pas extrapoler leurs effets dans d'autres conditions, ceux-ci pouvant être très différents d'un cas à l'autre, comme on le constatera.

1. La nature de la solution agit pour déterminer la vitesse de migration.

La vitesse de migration augmente lorsque l'élément est complexé, sa solubilité devient plus grande dans les solvants organiques de développement et l'on est enclin à attribuer ce changement à cette propriété.

F. H. Pollard en cite plusieurs exemples dans son livre dus à la formation de complexes avec l'acide chlorhydrique concentré, avec l'acide formique ou acétique (p. 60)⁹.

Dans nos propres expériences⁵, nous pouvons évoquer les migrations du fer et du titane, qui migrent très proches l'un de l'autre au départ de solutions dans l'acide chlorhydrique et qui sont parfaitement séparés en taches individuelles, au départ de solutions acétiques ou citriques (Fig. 8). Le chrome n'est parfaitement séparé du molybdène que si l'on travaille en solution chlorhydrique²⁰.

Effet de la nature de la solution sur la vitesse de migration (chlorures).

Nature de la solution	Durée de Développement min.	10 µg Aluminium		10 µg Titane		10 µg Fer	
		A/C	B/C	A/C	B/C	A/C	B/C
Ac. chlorhydrique 50% v/v	240	0,00	0,25	0,33	0,70	0,67	1,00
		0,00	0,24	0,34	0,68	0,69	1,00
Ac. chlorhydrique 15% v/v Ac. acétique 12% p/v ... Acétate sod. 16% p/v	240	0,02	0,20	0,30	0,67	0,77	1,00
		0,02	0,22	0,31	0,67	0,82	1,00
Ac. chlorhydrique 15% v/v Ac. citrique 10% p/v	240	0,02	0,20	0,26	0,47	0,90	1,00
		0,03	0,22	0,27	0,50	0,85	1,00
Ac. chlorhydrique 15% v/v Ac. tartrique 10% p/v ...	240	0,00	0,22	0,22	0,52	0,12	1,00
		0,00	0,22	0,25	0,50	0,12	1,00

2. La nature du papier et son conditionnement peuvent agir sur les vitesses.

Nous n'avons pas travaillé sur d'autres papiers que le Whatman n° 4 et n° 1 mais des auteurs ont constaté des variations notables de R_f en chromatographiant les acides aminés sur 15 papiers de qualités différentes.

Dans la séparation Cobalt/Cuivre/Zinc nous avons pu constater⁶ que le conditionnement à 52% d'humidité est le plus favorable à une bonne séparation, tandis que dans la séparation Tungstène/Chrome + Vanadium/Molybdène/Fer, c'est la dessiccation sur anhydride phosphorique qui donne le meilleur résultat.

L'efficacité de ces conditionnements peut être illusoire si les prises ne sont pas déposées *immédiatement* sur le papier après son extraction de l'enceinte de conditionnement. La mesure photométrique des blancs papiers ainsi conditionnés montre que chaque degré d'humidité correspond à un diagramme photométrique et qu'au cours même de cette mesure, le papier reprend rapidement de l'eau ou en cède selon que son degré d'humidité est supérieur ou inférieur à celui de l'air ambiant au moment de la mesure (voir Fig. 1).

Cette particularité a son importance puisqu'elle est susceptible de troubler la reproductibilité de chromatogrammes fortement influencés par l'humidité du milieu (papier, prise et solvants). Nous n'avons pas expérimenté de conditionnements de papier dans la vapeur de solvants, mais certains auteurs en signalent la nécessité.

3. La forme des bandelettes agit sur la vitesse de migration.

Les mises au point ont toutes été réalisées — sauf mention faite — sur des bandelettes de 1 cm de largeur. En général, le papier triangulaire, pointe dirigée vers le bas, ne modifie que peu les vitesses de migration (Fig. 9). Les formes en biseau sont très avantageuses pour les séparations.

4. Le traitement des prises agit sur la vitesse de migration.

Le traitement des prises varie selon les éléments auxquels on a à faire. Pour l'aluminium, le fer, le titane, l'uranium, le tungstène, le chrome, le vanadium, le molybdène, le chromatogramme est meilleur lorsque les prises sont *séchées au dépôt* et développées ensuite. La durée et la température de la dessiccation sont excessivement importantes à observer. Dix minutes à 38 à 40° sont suffisantes pour sécher une prise de 0,01 ml. Une plus longue dessiccation ou une température plus élevée auront pour conséquence de supprimer toute migration. Dans le cas du silicium, du bore, du cobalt, du cuivre, du nickel et du zinc, les prises sont *développées humides*.

Effet du traitement de la prise sur la migration de l'élément.

Élément*	Saturant	Développant	Développement de la tache			
			sèche		humide	
			A/C	B/C	A/C	B/C
Zinc	Acétone	2-butanone 85 ml benzène 10 ml HCl conc. 5 ml	au dépôt		0,70	1,00
	Acétone	benzène 30 ml alc. acétique 70 ml	au dépôt		0,68	1,00
	Acétone 99 ml HCl conc. 1 ml	benzène 10 ml alc. propyl. 90 ml	au dépôt		0,80	1,00
Cadmium ..	2-butanone	benzène 40 ml alc. méthyl. 60 ml	au dépôt		0,85	1,00
	Acétone	dioxane	au dépôt		0,25	0,50
Bore	Acétone 50 ml	acétone 50 ml	0,06	0,40	0,00	0,14
	Benzène 50 ml	benzène 50 ml				

* 10 µg d'élément sous forme de nitrate en solution nitrique (1% v/v d'acide nitrique $d = 1,42$).

** Les mêmes valeurs ont été trouvées pour le zinc, le plomb et l'uranium dans ces mêmes conditions expérimentales.

Lorsque des solutions contiennent des éléments des deux types, les expériences sont faites en double; sur des prises séchées pour les uns et sur des prises humides pour les autres.

5. Les cuves et leur aménagement.

Toutes les observations relatives ici ont trait à des chromatographies descendantes, dans des cuves de 38 × 26 × 26 cm, contenant huit languettes de papier de 1 cm de large sur 25 cm de long. La saturant (100 ml) et le développant (20 ml) sont disposés symétriquement.

6. La nature des saturant et développant agit sur la vitesse de migration.

Il semble indispensable pour une reproductibilité des phénomènes chromatographiques qu'un équilibre de saturation soit réalisé dans l'enceinte de développement. Cet équilibre s'obtient d'autant plus facilement mais se maintient d'autant plus difficilement que les solvants sont plus volatiles. Normalement, une nuit suffit pour parfaire cette saturation. Mais pour des solvants réagissant entre eux (acide et alcools en présence d'acide chlorhydrique) cette saturation n'est en fait jamais atteinte.

puisque la composition de la vapeur évolue d'un moment à l'autre. Il en résulte des différences de vitesse de migration au cours d'utilisations successives des cuves chromatographiques. Les éléments ayant des analogies de structure se comportent de façon similaire dans les mêmes solvants, sauf s'il y a formation de complexes: le chrome et le vanadium n'ont jamais donné des taches séparées même pas en agissant sur les onze facteurs d'interférence. Des vitesses de migration plus grandes sont obtenues lorsque un complexe se forme, soit avec l'acide de la prise, soit avec le solvant, soit avec un réactif. Les alcools, les éthers, la benzoyle acétone, l'acétyl acétone, la collidine, la pyridine sont des solvants qui forment beaucoup de complexes. On peut obtenir des gradients de vitesse de migration en mélangeant les solvants entre eux. Des différences de vitesse de migration sont plus facilement obtenues lorsque le saturant employé est différent du développant. Dans ce cas, on constate que l'on obtient un pouvoir séparateur plus grand des solvants — autrement dit, un nombre de séparations plus grand.

Séparations obtenues en faisant varier les conditions de saturation et de développement²⁷.

Saturant	Développant	Durée min.	Séparations obtenues (10 µg de chacun des cations)
(Ni, Cu, Co, Fe):			
Acétone	Acétone	60	Ni/Cu
Benzène	Benzène	60	pas de migration
Acétone, HCl 1%	Acétone, HCl 1%	60	Ni/Cu, Ni/Co
2-butanone	2-butanone	60	Ni/Cu, Co/Cu
2-butanone	Acétone, HCl 1%	30	Ni/Cu, Ni/Co, Ni/Fe, Co/Cu, Co/Fe, Cu/Fe
2-butanone	2-butanone, HCl 5%	60	Ni/Cu, Ni/Co, Ni/Fe, Co/Cu, Co/Fe
(U, Pd, Zn, Cd):			
Benzène	Benzène	50	tous les éléments au front liquide
Benzène	Acide acétique Benzène 5%	70	Pb/U, Zn/U, Cd/U
Benzène	Ethanol, benzène 10, 15, 25%	75	Pb/Zn, Pb/Cd, Zn/Cd
2-butanone	2-butanone	25	tout au front liquide
2-butanone	Méthanol	35	Pb/Zn, Pb/Cd, Zn/Cd
2-butanone	2-butanone, méthanol 50%	35	id.
(Fe, Al, Ti, Cr, V, Mo):			
Acétone, HCl 10%	Acétone, HCl 10%	90	Al/Fe, Ti/Fe, Mo/Fe
Acétone, HCl 10%	2-butanone	40	id.
Acétone, HCl 10%	Acétone, benzène 25%	45	Al/Fe, Ti/Fe
Acétone, benzène 25%	Acétone, benzène 25%	40	Al/Fe, Ti/Fe, Cr/Fe, V/Fe, Mo/Fe
Acétone, benzène 25%	Acétone, HCl 10%	75	Al/Fe, Ti/Fe, V/Fe
Méthanol	Méthanol	40	V/Fe, V/Al, V/Ti, Mo/Fe, Mo/Al, Mo/Ti
Chloroforme	Chloroforme	60	pas de déplacement
Chloroforme	Méthanol	45	V/Fe, Mo/Fe, Cr/Fe, V/Al, Mo/Al, Cr/Al
Méthanol	Chloroforme	60	V/Fe, Mo/Fe

Dans pareil cas, il est assez exceptionnel de constater une reproductibilité dans la localisation des taches comme c'est de cas pour le Bore.

Plus fréquemment — et c'est bien compréhensible — le saturant est contaminé par le développant au cours des développements successifs et le vieillissement de l'atmosphère se marque par des vitesses de migration différentes et des taches localisées différemment au cours du temps.

Des exemples pris dans le développement de l'aluminium, du fer et de l'uranium, celui du cobalt, du cuivre et du zinc, ainsi que du tungstène, chrome, vanadium, molybdène, montrent très clairement ces phénomènes.

Contamination progressive du saturant par le développant¹⁸.

Saturant = 2 Butanone, HCl 5% v/v		Développant = Acétone, HCl 5%				
Silicate (10 g μ Si)	A/C	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	B/C	0,08	0,09	0,10	0,12	0,15
Borate (10 μ g B)	A/C	0,47	0,36	0,36	0,36	0,36
	B/C	0,73	0,79	0,79	0,74	0,73
Molybdate (10 μ g Mo)	A/C	0,95	0,94	0,94	0,95	0,95
	B/C	1,00	1,00	1,00	1,00	1,00

Contamination progressive du saturant.

S = Benzène	D = Acétone + 5% v/v HCl							
	1er jour		2e jour		3e jour	4e jour	5e jour	7e jour
Uranium A/C	0,11	0,15	0,29	0,30	0,37	0,40	0,45	0,47
B/C	0,16	0,22	0,36	0,35	0,45	0,45	0,61	0,64

Effet de l'humidité croissante apportée par le papier.

S = D = Méthyléthylcétone Papier non conditionné						
A/C	B/C	Co	Cu		Zn	
1er jour	0,00	0,24	0,42	0,55	0,69	0,90
2e jour	0,00	0,20	0,44	0,53	0,56	0,91

Pour le Co et le Zn, on peut dire que c'est l'eau du papier qui intervient pour fixer la position et la grandeur des taches.

Le développement devient impossible après le deuxième jour d'utilisation¹⁸.

Contamination progressive des solvants marquée par des variations progressives de vitesse de migration (vieillesse de l'atmosphère de la cuve).

S = alc. amylique (60 ml) benzène (10 ml) ac. chlorhydrique conc. (30 ml).

D = alc. amyl. (45 ml) + ac. formique 85% (55 ml).

Jours d'utilisa- tion	Durée du déve- lopement min.	Dimensions des taches								
		Tungstène		Chrome Vanadium		Molybdène		Fer		F. L. mm
		A/C	B/C	A/C	B/C	A/C	B/C	A/C	B/C	
1er....	120	0,00	0,07	0,15	0,44	0,55	0,75	0,80	100	207
		0,00	0,07	0,16	0,44	0,53	0,74	0,79	100	207
2e	120	0,00	0,05	0,12	0,40	0,57	0,85	0,85	100	230
		0,00	0,06	0,12	0,46	0,60	0,87	0,87	100	230
3e	120	0,00	0,05	0,12	0,45	0,55	0,75	0,80	100	213
		0,00	0,06	0,11	0,40	0,50	0,75	0,78	100	220
1er....	140	0,00	0,09	0,17	0,55	0,59	0,79	0,85	100	160
2e	140	0,00	0,07	0,13	0,54	0,55	0,73	0,85	100	181
3e	145	0,00	0,08	0,15	0,43	0,54	0,77	0,80	100	181
	la tache	diminue		remonte et diminue		remonte et diminue		remonte et grandit		s'al- longe

Le développement et le saturant deviennent hétérogènes ici.

Pour 120 et 140 minutes de développement, les taches diminuent de grandeur sauf pour le fer et elles remontent vers le dépôt.

Cette contamination progressive est nuisible à la bonne reproductibilité des chromatogrammes ainsi qu'au travail quantitatif.

On est ainsi amené à envisager comme 7e facteur d'interférence la contamination artificielle des solvants.

7. La contamination artificielle des solvants regularise les vitesses de migration.

Le contaminant est placé au moment de la saturation de la cuve et laissé en présence du saturant sauf pendant le développement. Le volume de contaminant suffisant dans nos conditions de travail est de 17 ml et

ceux-ci sont également répartis symétriquement dans la cuve. Le contaminant n'a pas un effet spécifique, mais son action est fonction de la nature de l'élément considéré et de celles des solvants employés²¹. Lorsque sa composition est bien établie, il est possible d'obtenir des chromatogrammes parfaitement reproductibles au cours des temps. Les tableaux suivants le démontrent.

Contamination artificielle de la Cuve.

S = Benzène D = Acétone + 5% v/v HCl C = D								
Aluminium (10 µg)	A/C ..	0,00	0,00	0,00	0,007	0,00	0,02	0,00
	B/C ..	0,25	0,27	0,25	0,27	0,020	0,021	0,015
Uranium (10 µg)	A/C ..	0,37	0,40	0,40	0,45	0,45	0,47	0,45
	B/C ..	0,45	0,45	0,45	0,65	0,63	0,64	0,61
Fer (10 µg)	A/C ..	0,95	0,95	0,92	0,93	0,95	0,95	0,95
	B/C ..	1,00	—	—	—	—	—	—

Effet de la contamination artificielle (17 ml HCOOH).

Jour d'utilisation	Durée du développement min.	10 µg Tungstène		Chrome + Vanadium		Molybdène		Fer	
		A/C	B/C	A/C	B/C	A/C	B/C	A/C	B/C
1er jour	120	0,00	0,07	0,08	0,42	0,44	0,65	0,67	1,00
	105	0,00	0,05	0,09	0,30	0,53	0,74	0,78	1,00
	105	0,00	0,05	0,08	0,30	0,50	0,65	0,74	1,00
2e jour	105	0,00	0,06	0,07	0,26	0,45	0,62	0,70	1,00
	105	0,00	0,06	0,09	0,33	0,36	0,61	0,69	1,00
3e jour	105	0,00	0,06	0,07	0,34	0,45	0,67	0,71	1,00

Effet de la contamination artificielle en humidité.

S = D = Methyléthylcétone distillée⁴ (Fig. 10 et 11).

Durée 45 min.	Pas de contamination S = D		Contamination Papier 52% S = D mm	Contamination Papier 52% (H 20) SD mm	Contamination Papier 76% (H 20) SD mm	Contamination H 20 Papier 52% S = D
	A/C	B/C				
Cobalt ..	0,00	98/108	35/75	40/100	35/80	Les taches ne sont pas mesurables
	0,24					
Cuivre ..	0,42	118/150	135/160	131/150	95/160	
	0,55					
Zinc ..	0,69	260/275	230/260	220/260	170/190	
	0,90					
	utilisable 2 jours			utilisable 3 jours		

Ceci démontre le rôle de traces d'humidité, dans le papier, dans le solvant et permet d'attirer l'attention sur l'importance que peut avoir une dessiccation intempestive d'un solvant après distillation.

Dans la chromatographie du tungstène, du chrome, du vanadium, du molybdène et du fer, deux modes de développement ont été essayés. L'un contenant un minimum d'eau donne un chromatogramme très réussi, mais qui laisse à désirer du point de vue quantitatif: le tungstène est dispersé tout au long du papier.

L'autre développement utilise un développant aqueux et un saturant humidifié, la composition de ces deux solvants étant à base des mêmes substances. Dans cette seconde manière, le tungstène, le chrome et le vanadium restent au dépôt, le molybdène et le fer migrent très peu. On n'obtient que deux taches mais la quantitative du tungstène est parfaite cette fois¹⁵.

Il est certain que la température des locaux joue un rôle important dans cette fixation d'eau par le papier et que le conditionnement d'air dans les locaux chromatographiques doit conduire aux résultats les plus reproductibles. On a en effet pu constater des migrations de taches sur papiers retirés des cuves et abandonnés sans être fixés ni découpés après chromatographie. Lorsque le travail quantitatif est en vue, la fixation des références

Chromatographie de solutions chlorhydriques renfermant 10 µg d'éléments.

Saturant: Alcool amylique (60 ml) Benzène (10 ml) Ac. chlorhydrique conc. (30 ml) Développant: Alcool amylique (45 ml) Ac. formique (55 ml) Durée: 160 minutes		Saturant: Couche aqueuse Développant: Couche organique alc. amylique (60 ml); benzène (10 ml); ac. Chlorhydrique conc. (30 ml); ac. formique (55 ml); eau (155 ml) Durée: 160 minutes	
Tungstène	30/42 mm	30/41 mm	27/43 mm
Chrome + Vanadium ..	52/97 mm	48/88 mm	26/45 mm
Molybdène	113/165 mm	140/183 mm	53/70 mm
Fer	éliminé		50/90 mm
			52/88 mm

de localisation et le découpage des taches à doser ne peut jamais être différé.

Tout ce qui est susceptible d'altérer le solvant au cours de la saturation ou du développement est de ce fait susceptible d'altérer la vitesse de migration des éléments et d'altérer la pureté du chromatogramme. Une observation très intéressante a été faite avec le dioxane. Ce solvant s'altère sous l'influence du soleil et cette modification très rapide a pour effet de modifier totalement l'aspect de la tache de fer. Les chromatogrammes avec des solvants photo-sensibles ne se feront donc pas dans une lumière vive²². D'autre part, c'est un moyen qualitatif très élégant de dépister des traces d'impureté apparaissant dans un solvant.

8. La présaturation agit sur la vitesse de migration.

Nous avons signalé que la saturation des cuves chromatographiques est généralement considérée comme suffisante après une nuit. Toutefois, dans la séparation tungstène, chrome, vanadium, molybdène et fer, on constate qu'au cours des développements successifs, les taches remontent et se rapprochent du dépôt. On a remarqué d'autre part que les résultats du dosage de ces taches étaient nettement meilleurs lorsque la saturation se faisait au cours d'un week-end. Voici les dimensions des taches obtenues de cette manière (saturation 68 heures et 160 minutes de développement):

Dimensions des taches obtenues après une présaturation de 68 heures. (10 µg).

Tungstène mm	Espace séparant les taches mm	Chrome + Vanadium mm	Espace séparant les taches mm	Molybdène mm
0-13	4	17-57	41	98-130
0-13	10	23-58	36	94-121
0-11	8	19-50	38	88-123
0-13	4	17-58	40	90-136

Alors que les erreurs de dosage des taches de tungstène après 17 heures de présaturation s'élevaient à 20%, elles ont été réduites à 6% après cette présaturation de 68 heures.

9. Le volume des prises peut avoir une repercussion sur la migration

si les proportions ne sont pas gardées entre les dimensions du papier et la quantité de solution qui y est déposée (voir Fig. 7).

10. La durée du développement peut avoir une repercussion favorable sur la migration des éléments.

En général, une durée standard de développement peut être fixée, mais il est des cas où, employant des saturant et développant différents, un contaminant, il est favorable de donner au développement une durée progressive pour obtenir des taches reproductibles toujours à la même place. Au cours des 5 jours successifs d'utilisation d'une même cuve, les durées de développement ont été de 160, 200, 240, 280 et 320 minutes dans le cas suivant:

Les dimensions des taches en mm sont:

Jour	Tungstène		Chrome + Vanadium		Molybdène	
1er	30/42	30/41	52/97	48/88	113/165	140/183
2e	30/41	30/42	49/89	52/95	134/167	155/190
3e	30/42	30/42	52/88	51/86	140/166	160/200
4e	30/42	30/41	54/87	54/86	170/210	180/230
5e	30/42	30/42	55/90	55/90	177/216	200/230

11. *Le mode de révélation des taches peut fausser le résultat de la chromatographie toute entière (voir plus haut).*

Il résulte de cette étude sur les facteurs influençant la vitesse de migration des éléments à la surface du papier, qu'une vitesse propre absolue n'existe pas. Chaque vitesse de migration déterminée l'est en fonction des conditions expérimentales et des précisions données notamment quant aux onze facteurs externes d'influence cités ici (la liste n'est pas complète). L'intervention de chacun de ces facteurs résulte d'observations, non de déductions. Pour en connaître le pourquoi, il faudra diriger les recherches dans un sens théorique. Jusqu'ici, la chromatographie a pu progresser en se servant uniquement de l'observation et de l'expérimentation par des moyens strictement microchimiques et non analytiques.

VI. **La chromatographie sur papier est essentiellement comparative.**

Blancs — Références.

Dès qu'il fut question de peser des milligrammes à un microgramme près, les physiciens démontrèrent l'impossibilité physique et théorique d'une telle opération. Mais les microchimistes donnent depuis cinquante ans, la preuve *expérimentale*, qu'en *comparant* des positions d'équilibre dans des conditions parfaitement identiques, cette pesée est parfaitement possible, avec une approximation du même ordre que celle de la pesée classique. Au lieu de fixer séparément la valeur de chacune des erreurs affectant la pesée, le microchimiste compare les objets à des tares. Les fluctuations du zéro de la balance et de ces tares représentent dans leur ensemble les effets du changement de pression, d'hygroscopicité de l'air, de la densité de l'air, de la température etc. sur la pesée. Le témoin, la tare, la référence, le blanc sont des moyens typiquement microchimiques employés pour assurer la sécurité des comparaisons.

A cet égard, la chromatographie sur papier est une technique typiquement microchimique, car aucun progrès dans aucune des phases d'une mise au point ne peut se faire sans l'aide de ces moyens. Il est d'autant plus nécessaire de procéder par comparaisons successives qu'ici, la nature de toutes les interférences n'est pas entièrement connue, que seuls se manifestent leurs effets d'une manière globale.

Cette manière de travailler est totalement opposée à la manière classique, qui se base sur des notions absolues et des relations stoechiométriques pour fixer le résultat d'un travail.

En chromatographie sur papier, le relatif va jusqu'à travailler avec des outils (papier) et des réactifs (solvants, atmosphère) contaminés, mais d'une façon *comparable* et *connue* et, de ce fait, reproductible aux erreurs d'expérience près. Par une série de comparaisons, des traces de fer se dosent ($\pm 3\%$ près) et s'identifient à la surface du papier qui en contient des quantités appréciables avec précision.

Le blanc et la référence sont les ressources indispensables du microchimiste pour assurer la précision et la reproductibilité de son travail.

C'est ainsi par exemple que l'opacité du papier doit être mesurée lorsqu'on procède au dosage photométrique direct des taches chromatographiées.

Si ce blanc-papier est négligé, le dosage photométrique du vanadium révélé par l'oxyquinoléine se fait à $\pm 10\%$ près tandis qu'en en tenant compte il se fait à $\pm 2,7\%$ près.

On peut envisager le blanc papier simple ou le blanc vaporisé, si le vaporisant confère au support une opacité différente.

C'est ainsi que dans le dosage photométrique du cobalt révélé par l' α nitroso- β naphthol, le blanc papier seul vaut au Beckman 0,125 unités D. O tandis que le blanc papier vaporisé — dont il est tenu compte dans le dosage — en vaut 0,130. $Q = 850 \text{ m}\mu$; fente 0,040 mm.

Ce blanc ainsi mesuré *globalement*, sur des rubans de papier, est tellement reproductible qu'il est possible de tenir compte d'une valeur moyenne ou de ne plus déterminer qu'un seul blanc par série de mesure, ce qui simplifie singulièrement le travail.

S'il s'agit de taches chromatographiées, il est évident que ces blancs

papers doivent avoir subi l'effet de la chromatographie pour se rapprocher du blanc réel intervenant dans la mesure après développement. Il y aura toujours une différence d'effet inconnue du fait que l'élément n'y est pas déposé. Même la solution de base est à envisager dans la constitution des blancs, car elle peut affecter l'opacité du papier ou la spectrophotométrie d'une solution à mesurer.

Le blanc papier élué dans le dosage polarographique de l'uranium correspond en moyenne à 1,48 unités de l'échelle, tandis que le blanc papier réactif élué en vaut 1,61 unités (16 déterminations), montrant l'influence des réactifs. L'influence de l'élution dans la constitution du blanc est mise en lumière par le blanc (solution) dans la spectrophotométrie du cobalt combiné à l' α nitroso- β naphthol. Dans ce dosage le blanc réactif solution vaut 0,016 unités D. O. alors que le blanc élué réactifs (solution) en vaut 0,018 unités D. O.

Une concentration se déduira de la *comparaison* de la photométrie de la tache ou de la spectrophotométrie de la solution éluée avec le blanc correspondant. Ce dernier reste constant tandis qu'à mesure que décroît la concentration de la solution à mesurer, décroît la différence. Il s'en suit que l'imprécision du dosage doit être et que l'on est susceptible d'atteindre la limite de sensibilité de la technique de dosage employée, aux basses concentrations.

Pour éviter cet écueil, il arrive qu'aux basses concentrations, l'on ajoute à l'inconnue une prise connue de l'élément à déterminer. Le dosage spectrophotométrique de $0,1 \mu\text{g}$ de cobalt peut grâce à ce subterfuge, encore se faire à $\pm 4\%$ près, c'est à dire dans les mêmes limites qu'à l'échelle habituelle.

La seconde valeur de base servant aux comparaisons en vue des identifications et des dosages est la *référence*.

Les mêmes recherches et étapes président à son élaboration qu'à celle du blanc, pour être dans des conditions de reproductibilité et de précision maxima. Après ce qui vient d'être dit pour le blanc, il est évident que toute contingence aura sa répercussion sur la référence et sur le résultat du dosage subséquent. C'est au moyen de ces références que se trace le diagramme de dosage auquel on se rapporte pour déduire la concentration de toute inconnue.

On trouve par exemple une différence de 14% entre la référence de $10 \mu\text{g}$ de tungstène en solution et la référence de $10 \mu\text{g}$ de tungstène chromatographiés et élués dans certaines conditions et jusqu'à 20% pour le chrome. A priori il est impossible de dire de quelle manière seront faites ces références, cela varie essentiellement d'un cas à un autre.

La concentration d'une inconnue se déduit de deux comparaisons:

- 1° — de la mesure de cette inconnue avec le blanc.
- 2° — de la différence du 1° avec le diagramme de référence.

La précision du résultat dépend essentiellement de la précision de chacun des termes de ces comparaisons.

On a le choix pour le dosage d'une inconnue entre les méthodes directes de dosage des taches sur papier et les méthodes indirectes impliquant une élution de la tache.

Les méthodes directes de dosage sont les plus rapides, elles utilisent la mesure de la couleur de la tache révélée, de sa densité optique, de sa fluorescence, de sa radioactivité; elles peuvent aussi se servir de titration. Sauf dans le dernier cas, il reste toujours une pièce à conviction après la mesure.

Pour titrer une tache chromatographiée en vue de déterminer une concentration d'élément, elle ne peut être ni fixée ni révélée, mais découpée selon les indications d'un chromatogramme pilote de référence. Il ne restera donc pas de pièce à conviction après titrage. La valeur de la tache se déduit de la *comparaison* de quatre solutions:

- 1° — un témoin quantitatif contenant tous les réactifs, l'indicateur (000) et une fraction de papier chromatographié. Le niveau de coloration de départ est ainsi fixé, de manière à saisir le tout premier virage;
- 2° — un blanc-témoin, constitué comme le précédent, est titré;

3° — une référence, préparée comme les deux premières solutions et contenant une quantité connue d'éléments à doser, est titrée;

4° — l'inconnue préparée de même est titrée.

La différence entre le 4° et le 2° donne la valeur à porter sur le diagramme de référence pour en déduire la concentration de la tache inconnue. De 3 à 10 μg de molybdène se dosent ainsi à $\pm 3,5\%$ près et le vanadium se dose à $\pm 4,5\%$ près entre les mêmes limites.

Parmi les méthodes indirectes de dosage des taches chromatographiques, il convient de signaler l'absorptiométrie, la spectrophotométrie, la polarographie, la titrimétrie, la densité, l'indice de réfraction, le pouvoir rotatoire etc. Toutes sont pratiquées sur des éluats provenant de taches. Par la comparaison de ces éluats avec des blancs et des références élués, on tourne les difficultés qui peuvent être amenées par l'élution de certains éléments du papier et le résultat est obtenu à ± 1 à 5% près à l'échelle du microgramme.

Ces méthodes indirectes sont plus longues que les autres; il y a en outre à compter avec la dilution de l'élément, du fait de l'élution et des lavages nécessaires de ce fait, ainsi que de la dilution pour amener au volume dans le cas de colorimétrie. Dans le cas de dosages de traces, les quantités frisent vite la limite de sensibilité des méthodes et mettent dans l'obligation d'employer d'autres subterfuges pour remonter le niveau du travail, dans la zone de meilleure sensibilité.

La mise au point de ces méthodes indirectes présuppose une mise au point supplémentaire des conditions d'élution quantitative.

Des interférences dans les dosages d'éléments sont toutefois éliminées par les deux types de méthode pour les éléments comme: fer, titane et tungstène, chrome, molybdène, nickel, cobalt, cuivre, fer ainsi que molybdène, bore et aluminium, fer, uranium, etc.

Les difficultés qu'une mise au point chromatographie peut susciter seront évoquées par la séparation fer/titane. En effet, leur séparation n'étant pas totale à partir de solutions 50% v/v chlorhydrique, l'élution commune obligatoire des deux éléments par l'acide sulfurique 0,25% v/v était commandée par le fait que 100% de fer déposé sont sortis du papier par cette élution (92% de titane seulement). Le réactif de dosage de ces deux éléments dans le même éluat ne pouvait être autre que le Tiron. Une fois la séparation des taches réalisée, — par un changement dans la composition de la solution de départ, — chacune des taches a pu être éluee individuellement et l'emploi d'acide chlorhydrique à 5% v/v pour le titane, fournit les 100% de cet élément déposé avec une approximation de l'ordre de 3% sur 8 à 9 μg . Dès lors, chaque éluat peut aussi être dosé individuellement, par le réactif donnant la meilleure approximation.

Un autre exemple typique peut être emprunté à la séparation du fer, du tungstène, du chrome, du vanadium et du molybdène. Au départ de solutions dans l'acide chlorhydrique, les dosages spectrophotométriques de chrome et des autres éléments sont parfaits.

Au départ de solutions chlorhydrique-potassiques, il y a des interférences mutuelles dans les dosages du tungstène, du chrome et du molybdène que l'on peut toutefois surmonter par l'emploi de diagrammes conventionnels comme il est démontré dans le tableau suivant:

Densité optique pour 10 μg de chrome chromatographié au départ d'une solution chlorhydrique.

Chrome seul	Chrome et vanadium	Chrome séparé du molybdène
0,220	0,219	0,218
Reproductibilité:		
$\pm 1,5 \%$	$\pm 1,0 \%$	$\pm 1,0 \%$
Au départ d'une solution chlorhydrique potassique.		
Chrome seul	Chrome séparé du tungstène	Chrome séparé du molybdène
0,220	0,213	0,232
Reproductibilité avec diagrammes conventionnels:		
$\pm 2,5 \%$	$\pm 1,3 \%$	$\pm 1,8 \%$

Malgré les détours nécessaires pour se débarrasser d'influences perturbatrices à toutes les étapes, il est certain que la pratique de la chro-

matographie quantitative sur papier conduit à des mises au point impeccables et à des résultats qui ne doivent rien en précision aux méthodes classiques de dosage. Cela n'est possible que grâce à des confrontations très nombreuses et très serrées:

Quelques applications de la chromatographie sur papier dans le domaine organique.

Substance isolée après Chromatographie	Quantités limites approximation μg	Durée de la chromatographie heures
Acides aminés	0,2 - $\pm$ 2%	8-24-48-85
Sucres	1-5 - $\pm$ 2% 40 - $\pm$ 5% 0,5 - $\pm$ 8%	8-24
Polyalcools	1	
hexitols, glycerol, éthylène, glycol, glucosides	10	
Acides carboxyliques	20	30
malique, tartrique, citrique		
C ₄ - C ₈ - C ₁₀	5	
Substance phénoliques	5	15
C ₆ - C ₁₅		
Amines aromatiques	10 - 20 1 $\pm$ 5 - 12%	5
Purine, pyrimidines	0,5 - 10	
Nucléotides, flavine	0,01 - 20	
Vitamine B		1 - 2 72
Alcaloïdes	5 - 10	15
ergométrine / ergométrinine	0,2 - 0,5	
Pénicillines		4 - 6

Tableau des microdosages de taches chromatographiques d'éléments.

Élément dosé après chromatographie	Limites des quantités approximations μg	Méthode de dosage	Autres éléments présents en solution
Aluminium (240 min.)	3-15 $\pm$ 3%	Spectrophot. (aluminon)	Fer-titane ⁵
Titane (240 min.)	5-15 $\pm$ 3%	Spectrophot. (tiron)	Aluminium, fer ⁵
Fer (240 min.)	5-15 $\pm$ 2%	Spectrophot. (tiron)	Aluminium, titane ⁵
Uranium (75 min.)	0,4 ml $\pm$ 10% 50 $\pm$ 5%	Polarographie Polarographie	Fe, Zn, Mn, Cr Aluminium, fer ¹¹
Cobalt (45 min.)	0,5-10 $\pm$ 2-3%	Absorptiométrie α -nitroso- β - naphthol Titration, Photométrie (Beckmann)	Cuivre, zinc ²⁴ Cuivre, zinc Cuivre, zinc ²⁴
Cuivre (35 min.)	0,1-10 $\pm$ 2,5%	Photométrie	Cobalt, zinc ²⁴
Bore (35 min.)	1-10 $\pm$ 3%	Spectrophot.	Silicium, molybdène, fer ¹⁶
Molybdène (160-320 min.)	12,5 ml $\pm$ 2,5% 5-12 μg $\pm$ 1% 10 $\pm$ 3,5%	Absorptiométrie Absorptiométrie (thiocyanate) Titration	Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Ni, U, V ²⁵ Chrome, vanadium ¹⁴ Chrome, vanadium ¹⁴
Vanadium (160-320 min.)	10 $\pm$ 4,5% 10 $\pm$ 3-4% 0,5-5 $\pm$ 2,7%	Titration Absorptiométrie Photométrie	Molybdène ¹⁴ W, Cr, Mo, Fe ²⁶ Cr + V sép. W, Mo, Fe ²⁶
Tungstène (160-320 min.)	10 $\pm$ 1-2%	Absorptiométrie (dithiol)	Cr, V, Mo, Fe ¹⁵
Chrome (160-320 min.)	10 $\pm$ 3%	Absorptiométrie Diph. carbazide	W, V, Mo, Fe ²⁰

La reproductibilité qualitative des résultats peut se trouver dans les tableaux donnés au cours de ce travail. La reproductibilité quantitative dont un aperçu moyen figure dans le tableau précédent, résulte de déterminations individuelles dont nous donnerons quelques exemples ici.

Spectrophotométrie de cations chromatographiés et élués (après séparation) — mesures au Beckman.

Aluminium (aluminon)	Titane (tiron)	Fer (tiron)	Cuivre (diéthylidith. carbamate)	Nickel (D. M. glyoxime)	Cobalt (nitroso-R-Sel)
Quantités mises en solution en μg .					
9,5	9,0	12,4	10,0	10,0	0,5 (0,052 U.T.)
Quantités retrouvées par dosage en μg ou en unités du tambour (Spekker)					
9,5 / 9,4 / 9,6	9,0 / 9,3	12,3	10,02 / 10,20	10,13 / 10,0	0,050 / 0,050
9,6 / 9,4 / 9,5	8,5 / 8,7 / 8,5	12,3	10,02 / 10,02	10,09 / 9,97	0,050 / 0,050
8,9 / 9,0 / 9,7	8,5 / 8,5 / 8,7				0,050 / 0,055
9,8 / 9,7 / 9,5 / 9,4					0,052 / 0,050
9,6 / 9,4 / 9,5					0,050 U. T.

Spectrophotométrie d'anions chromatographiés et élués (après séparation) — mesures au Beckmann.

Bore (carmin)	Molybdène (thiocyanate de potassium)	Vanadium (ac. phospho- tungstique)	Chrome (D. PH. carbazole)	Tungstène (dithiol)
Quantités mises en solution en μg				
10,0	10,0	11,0 (0,045 U.T.)	10,0	10,0
Quantités retrouvées en μg ou en unités du tambour (Spekker)				
9,82 / 9,74 / 9,82	10,2 / 10,1	0,046 / 0,048	9,92 / 9,92	10,1 / 9,9 / 9,9
9,91 / 9,85 / 9,86	10,1 / 10,00	0,047 / 0,047	9,8 / 10,06	10,1 / 10,2 / 10,3
10,02 / 10,20	10,00 / 10,2	0,047 / U.T.	10,00 / 9,82	9,8 / 10,0 / 9,9
	9,85 / 10,2			10,2 / 10,0 / 10,3

Dosage direct des éléments sur papier après séparation chromatographique.

Titrage		Photométrie		Spectrophotométrie
Molybdène	Vanadium	Cobalt	Vanadium	Cobalt
Quantités d'éléments engagées en μg				
10,00	9,97	1,00	2,00	3,00
densité optique				
Quantités d'éléments retrouvés après séparation chromatographique				
9,94 / 9,88	10,00 / 9,78	0,98 / 0,98	1,98 / 2,08 / 2,00	0,064 / 0,063 / 0,064
10,08	9,94			0,065 / 0,063 / 0,064
9,94				0,064 / 0,062 / 0,063
				0,064 / 0,065 / 0,064
				0,066 / 0,064 / 0,065
				0,064 / 0,065 / 0,063

Ces chiffres ne sont pas l'effet d'un heureux hasard, ni celui d'une sélection, ils sont l'image d'un travail normal, simple, automatique, accessible à n'importe quel opérateur informé. Les mises au point réalisées dans chaque cas, se sont faites par des voies expérimentales et absolument différentes de celles habituellement suivies pour un travail de mise au point d'une méthode classique. L'application de cette technique quantitative sur papier a permis l'élargissement de nos connaissances, tant théoriques que scientifiques, artistiques médicales et pratiques, dans une mesure qui n'a jamais été atteinte par aucune autre technique. Des sciences nouvelles sont nées grâce à elle, à cause de son pouvoir de pénétration au niveau des micro et des ultra microquantités, ainsi que dans les domaines inaccessibles aux méthodes purement chimiques. Des produits, jusqu'ici, jamais encore isolés l'ont été sur papier, vérifiant ainsi leur existence théorique prévue. S'il en est ainsi, on peut dire que par l'échelle de travail, la chromatographie sur papier est une micro

méthode. Elle l'est encore par les critères qui et qui sont ceux de toute véritable méthode microchimique.

Sa portée étant générale, on se demande comment il est possible de l'intégrer dans la discipline que l'on nomme la *Microchimie*, si l'on ne veut considérer cette dernière que comme technique analytique ou microanalytique? S'il est vrai que la microanalyse a révolutionné les recherches biologiques, que dire des effets produits sur toutes les sciences par la chromatographie quantitative sur papier? Ce serait une erreur de continuer à ne considérer de la microchimie que le côté microanalytique, car on réduirait de ce fait son potentiel et ses acquisitions.

Lentement, mais sûrement, l'esprit et l'intelligence humaine s'ouvrent à la vérité. Cette conception plus large de la Microchimie apparaîtra en son temps comme indispensable, de même que la place qui revient à cette discipline dans l'organisation générale des sciences. Ce mouvement de vérité peut être endigué pendant un certain temps, mais il doit normalement se développer par la force même des choses.

Résumé.

Par des voies totalement différentes de celles suivies dans le travail chimique ou analytique classique et des moyens originaux, la *Chromatographie quantitative sur papier* s'est développée. A l'échelle du microgramme et même pour des quantités parfois mille fois plus faibles, des réalisations d'une étonnante simplicité et d'une reproductibilité remarquable ont été faites. Cette technique possède tous les caractères d'une microtechnique parfaite, elle est douée d'une portée générale: théorique et pratique; organique, inorganique; préparative ou synthétique, analytique; qualitative et quantitative. Ce cas démontre la nécessité d'élargir la conception microchimique au delà de la notion de microanalyse et d'analyse.

Zusammenfassung.

Die Entwicklung der quantitativen Papierchromatographie verlief durchaus verschieden von der der klassischen Analytik und mit Hilfe durchaus origineller Mittel. Im Mikrogramm-Maßstab und auch für tausendfach geringere Mengen wurden Verfahren von erstaunlicher Einfachheit und bemerkenswerter Reproduzierbarkeit ausgearbeitet. Diese haben die charakteristischen Merkmale mikrochemischer Arbeitsweise und sind von allgemeiner Bedeutung in theoretischer und praktischer Hinsicht, für organische und anorganische, präparative und synthetische, qualitative und quantitative Aufgaben. Darin zeigt sich die Notwendigkeit, den Begriff der Mikrochemie über den der Analytik bzw. Mikroanalytik hinaus auszudehnen.

Bibliographie.

- ¹ A. A. Benedetti-Pichler, *Mikrochem.* **36/37**, 29 (1951).
- ² F. F. Runge, *Farbenchemie*, Vol. 3. Berlin: 1850; *Der Bildungstrieb der Stoffe*. 1855.
- ³ R. Consden, A. H. Gordon et A. J. P. Martin, *Biochem. J.* **35**, 1358 (1941).
- ⁴ A. Lacourt et P. Heyndryckx, *Mikrochim. Acta* [Wien] **1954**, 630.
- ⁵ A. Lacourt, G. Sommereyns et G. Wantier, *Analyst* **77**, 943 (1952).
- ⁶ A. Lacourt, *Ind. chim. Belge* **20** (3), (1955).
- ⁷ F. Feigl, *Chemistry of Specific, Selective and Sensitive Reactions*. New York: Academic Press. 1949.
- ⁸ G. N. Kowkabany et H. G. Cassidy, *Analyt. Chemistry* **22**, 817 (1950).
- ⁹ F. H. Pollard et J. F. W. McOmie, *Chromatographie Methods of Inorganic Analysis*. London: Butterworths. 1953. E. et M. Lederer, *Chromatography*. Amsterdam: Elsevier. 1953. p. 9, 21 et 80. N. F. Kember et R. A. Wells, *Nature* **171**, 512 (1955).
- ¹⁰ A. Lacourt, G. Sommereyns, E. De Geyndt, J. Baruh et J. Gillard, *Mikrochem.* **34**, 215 (1949).
- ¹¹ A. Lacourt, G. Sommereyns et J. Soete, *Mikrochem.* **38**, 348 (1951).
- ¹² A. Lacourt, G. Sommereyns, E. De Geyndt, J. Gillard et J. Baruch, *Nature* **163**, 999 (1949).
- ¹³ J. N. Balston et B. E. Talbot, *A Guide to Filter Paper Chromatography*. London: H. Reeve Ansel. 1952.
- ¹⁴ A. Lacourt, G. Sommereyns, A. Stadler-Denis et G. Wantier, *Mikrochem.* **40**, 268 (1953). A. Lacourt, *Ind. chim. Belge* **18**, 687 (1953).
- ¹⁵ A. Lacourt et G. Sommereyns, *Mikrochim. Acta* [Wien] **1954**, 604.
- ¹⁶ A. Lacourt, G. Sommereyns et M. Claret, *Mikrochem.* **38**, 444 (1951).
- ¹⁷ F. Feigl, *Spot Tests*. Amsterdam: Elsevier. 1954.

- ¹⁸ *E. De Geyndt*, Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences, Université Libre de Bruxelles. 1950.
- ¹⁹ *A. Lacourt*, Ind. chim. Belge **18**, ... (1953).
- ²⁰ *A. Lacourt* et *G. Sommereyns*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 550.
- ²¹ *A. Lacourt*, *G. Sommereyns* et *G. Wantier*, Mikrochim. Acta [Wien] **1954**, 240.
- ²² *A. Lacourt*, *G. Sommereyns* et *E. De Geyndt*, Mededel. Vlaamse chem. Ver. **1950**, 91.
- ²³ *F. H. Burstall* et *R. A. Wells*, Analyst **76**, 396 (1951).
- ²⁴ *A. Lacourt* et *P. Heyndrickx*, Mikrochim. Acta [Wien] **1955**, 62.
- ²⁵ *F. H. Pollard*, *J. F. W. McOmie*, *H. M. Stevens* et *J. G. Maddock*, J. Chem. Soc. London **1953**, 1338.
- ²⁶ *A. Lacourt*, Ind. chim. Belge **20**, ... (1955).
- ²⁷ *A. Lacourt*, *G. Sommereyns* et *G. Wantier*, C. r. acad. sci., Paris **232**, 2426 (1951).

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/85.

Zeilenanzahl: 140.

Aus dem Kontroll-Laboratorium der Farmitalia - Milano.

Determinazione di alcuni composti ossiantrachinonici a mezzo di titolazione in solventi non acquosi.

Ada Anastasi, Ulisse Gallo ed Enrico Mecarelli.

Con 1 figura.

(Trasmesso 4 Giugno 1955.)

Il grandissimo numero di pubblicazioni uscite negli ultimi anni sull'argomento delle titolazioni in solventi non acquosi dimostra l'importanza assunta da questi metodi che hanno trovato larga applicazione soprattutto nel controllo dei farmaceutici. E' noto a chi si occupa di analisi dei medicamenti quanto spesso accade di dover determinare sostanze diverse in presenza le une delle altre e difficilmente separabili, e quanto in questi casi, sia utile un metodo che all'accuratezza e precisione, alla semplicità e sensibilità unisca molto spesso anche la selettività che permette di eliminare lunghe e noiose separazioni preventive. Nel laboratorio degli autori molto spesso si è ricorso a questi metodi per risolvere diversi problemi analitici¹⁻⁴; anzi essi sono entrati ormai nell'uso corrente per il controllo di routine di medicamenti allo stesso modo che le titolazioni di acidi e di basi in soluzione acquosa.

Il più universalmente usato dei metodi in ambiente anidro è, quello delle titolazioni di basi sciolte in acido acetico a mezzo dell'acido perclorico in acido acetico, mentre meno diffusa è la titolazione di acidi sciolti in solventi alcalini, a mezzo di soluzioni titolanti alcaline.

Effettivamente il primo dei metodi possiede caratteri di semplicità del tutto simili a quelli delle titolazioni acquose mentre per il secondo si notano alcuni inconvenienti.

Ad esempio: 1) delle soluzioni normalmente usate per le titolazioni anidre è più semplice preparare la soluzione titolante acida a base di HClO_4 in acido acetico partendo dalla soluzione HClO_4 del commercio, che la soluzione alcalina di metilato sodico in benzolo a partire dal sodio metallico.

2) la soluzione di acido perclorico si conserva altrettanto bene che le soluzioni acide in acqua ed il suo titolo non varia apprezzabilmente anche a distanza di alcuni mesi; la soluzione di metilato sodico invece si altera facilmente assorbendo anidride carbonica e deve essere frequentemente standardizzata.

3) la soluzione della sostanza basica da titolare in acido acetico può essere lasciata ed anche scaldata all'aria senza pericolo di alterazione mentre le soluzioni di acidi deboli in liquidi alcalini devono essere tenute accuratamente fuori del contatto dell'aria perchè assorbono molto facilmente anidride carbonica con conseguente aumento dell'acidità che si tradurrebbe in un errore in eccesso sulla quantità di sostanza trovata, anche durante la titolazione è bene chiudere il recipiente dove si trova la soluzione da titolare con un tappo forato per lasciar passare la punta della buretta ed eventualmente gli elettrodi a meno che una grande pratica dell'operazione non consenta di eseguirla con una rapidità che renda trascurabile l'errore dovuto all'inconveniente sopra citato.

Quest'inconvenienti sono tuttavia trascurabili se si considera che con questo metodo si possono eseguire determinazioni come quelle in questione, che altrimenti sarebbero molto più laboriose e complesse.

Un metodo proposto per la determinazione dell'1,8 diossiantrachinone consiste infatti in una complicata copolazione del composto

allo stato di sale potassico in soluzione accuratamente refrigerata, per mezzo del diazo derivato della nitroanilina contenuto a sua volta in una buretta scura anch'essa refrigerata con camicia di ghiaccio. Considerato il complicato metodo di preparazione dei reagenti facilmente decomponibili e quello di titolazione, in cui alla difficoltà di attuazione si somma la scarsa riproducibilità, è facile comprendere quali vantaggi presenti il metodo da noi proposto.

I composti esaminati sono l'1-8 diossiantrachinone l'1-8 diossi-3-metilantrachinone, e l'1-8 diossi-3-metilantrone che si usano in medicina per le loro note proprietà terapeutiche.

Il metodo permette di determinare le tre sostanze allo stato puro o contenute nelle specialità sia finite che in fase di lavorazione.

Modo di operare:

Apparecchiatura: pH-metro o altro apparecchio per titolazione potenziometrica la coppia di elettrodi vetro-antimonio, di cui l'elettrodo di antimonio funziona da indicatore e quello di vetro da riferimento, si è rivelata come la più adatta per operare nell'ambiente basico da noi usato.

Reattivi e solventi: la soluzione titolante di metilato sodico 0,1 N è stata preparata secondo Fritz Lisicki⁵ e standardizzata con acido benzoico sciolto in miscela benzenometanolo. Come solvente si è trovato opportuno usare la piridina che con il suo carattere basico esalta le proprietà acide dei composti in esame.

In questo solvente le curve di titolazione di questi composti fenolici, in acqua acidi debolissimi, hanno l'andamento delle curve di titolazione di acidi forti (fig.). Si osserva infatti per l'1-8 diossiantrachinone un salto di potenziale molto ampio e netto che può raggiungere anche i 200 mv. per un'aggiunta di 0,2 cc. di soluzione titolante. Per il diossi metilantrone un po' meno ampio, ma sempre molto evidente, permette di cogliere ugualmente con grande esattezza il punto di equivalenza.

Procedimento: un'aliquota di gr. 0,1 circa di sostanza, si introduce in un piccolo beaker di forma alta e stretta con cc. 50 circa di piridina previamente neutralizzati con la soluzione di metilato. Si chiude il recipiente con adatto tappo di gomma per evitare il contatto con l'aria e si agita per qualche tempo con agitatore elettromagnetico per facilitare la dissoluzione della presa da saggio. Si titola quindi con sodio metilato introducendo gli elettrodi e la punta della buretta nel beaker attraverso un tappo a tre fori che chiuda ermeticamente. Durante l'aggiunta di soluzione titolante la soluzione si colora fortemente in rosso, cosa che impedisce l'impiego di qualunque indicatore.

Tabella 1.

1-8 diossiantrachinone (1)		
dovuto	trovato	errore %
0,08960	0,08980	+ 0,22
0,08830	0,08826	- 0,05
0,10795	0,10776	- 0,18
0,12430	0,12450	+ 0,18
0,11470	0,11504	+ 0,30
0,14400	0,14385	- 0,104

Errore medio +0,27.

Tabella 2.

1-8 diossi-3-metilantrone		
dovuto	trovato	errore %
0,11500	0,11534	+ 0,3
0,12700	0,12680	- 0,15
0,13542	0,13576	+ 0,25
0,14733	0,14762	+ 0,20
0,09825	0,09813	- 0,12
0,09907	0,09875	- 0,32

Errore medio +0,16.

I risultati riportati nelle due tabelle mostrano la grande riproducibilità del metodo.

(1) Per le prove è stata usata la „Farmistina“ Farmitalia sia allo stato puro che sotto forma della specialità per uso veterinario costituita da una miscela al 95% con carbone animale.

Riassunto.

È stato applicato il metodo di titolazione potenziometrica con metilato sodico a composti fenolici aventi formula simile come l'1-8 di ossiantrachinone, l'1-8 diossi-3-metilantrachinone e l'1,8 diossi-3-metil antrone, di notevole importanza farmaceutica.

Come solvente si è usata la piridina e come rivelatori del punto di equivalenza una coppia di elettrodi vetro-antimonio non essendo possibile usare indicatori data la forte colorazione delle soluzioni.

Zusammenfassung.

Die potentiometrische Titration mit Natriummethylat wurde zur Bestimmung von Derivaten herangezogen, deren Zusammensetzung dem 1,8-Oxyanthrachinon, dem 1,8-Dioxy-3-methylantrachinon und dem 1,8-Dioxy-3-methylanthron ähnlich ist.

Als Lösungsmittel wird Pyridin verwendet. Der Umschlagspunkt wird mit Hilfe eines Elektrodenpaares Glaselektrode-Antimonelektrode festgestellt, da die starke Eigenfärbung der Lösungen den Gebrauch von Indikatoren ausschließt.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/86.

Zeilenanzahl: 335.

Aus dem Zentralen Medizinisch-chemischen Laboratorium in Zagreb.

Die spektrometrische Bestimmung des Kupfers im Serum.

Von

Ibrahim Ruždić und Kata Blažević.

Mit 3 Abbildungen.

(Eingelaugt am 8. Juni 1955.)

Verschiedene organische Verbindungen geben mit Kupfer gefärbte Komplexe, die von einzelnen Autoren (z. B. Hoste⁸, Gruzevska¹⁴, Wenger¹⁸) zur kolorimetrischen Bestimmung kleiner Mengen Kupfer benützt wurden. Von allen diesen organischen Reagenzien hat das diäthylthiocarbaminsaure Natrium die verbreitetste Anwendung gefunden⁷, was insbesondere für die Bestimmung des Kupfers in biologischem Material zutrifft. Dies hängt damit zusammen, daß Diäthylthiocarbaminat wegen seiner großen Empfindlichkeit schon mit den minimalen Mengen Kupfer, die im normalen Blutserum vorhanden sind, eine sehr intensive Färbung gibt, die sich leicht für photometrische Messungen auswerten läßt. Die Intensität der so entwickelten Farbe ist direkt proportional der Menge des vorhandenen Kupfers.

Die Tatsache, daß Diäthylthiocarbaminat nicht nur mit Kupfer, sondern auch mit einer ganzen Reihe anderer Kationen gefärbte Komplexe bildet, weiterhin die Tatsache, daß die Farbe des Kupferkomplexes nicht stabil ist und daß das Kupfer sich im Serum nicht im Ionenzustand, sondern fast vollständig in irgendeiner Form als Kupferprotein⁶ gebunden findet, veranlaßte die Ausarbeitung einer großen Zahl mehr oder weniger erfolgreicher Vorschriften für die Untersuchung des Serums, deren Analysenergebnisse reproduzierbar sein sollen.

Von allen Metallen, die mit Diäthylthiocarbamat reagieren, findet sich im Serum außer Kupfer eigentlich nur das Eisen, das die Kupferbestimmung merklich stört. Nach den Erfahrungen der Mehrzahl der Autoren^{2, 3, 5, 12} kann diese Störung durch Maskierung des Eisens mit Natriumpyrophosphat beseitigt werden. Da aber der Kupferkomplex des Diäthylthiocarbamats in Wasser schwer löslich ist¹⁵, kann es leicht zu dessen teilweiser Ausfällung aus wäßrigen Lösungen kommen, wodurch die Farbtintensität der Komplexlösung geschwächt wird. Um dies zu vermeiden extrahieren manche Autoren^{1, 13} den Komplex mit verschiedenen organischen Lösungsmitteln, wie z. B. mit Äther, Chloroform, Isoamylalkohol, Tetrachlorkohlenstoff u. ä. Die Hauptbedingung zur Erreichung verlässlicher Resultate ist bei den Extraktionsmethoden die quantitative Überführung des gefärbten Komplexes aus der wäßrigen in die organische Phase. Diese Überführung des Komplexes in die organische Phase bildet aber auch die potentielle Quelle jener Fehler und Schwierigkeiten, die die einzelnen Verfahren unzuverlässig erscheinen lassen. Manche Autoren erzielen die quantitative Überführung des Komplexes in die organische Phase durch mehrmaliges Extrahieren unter besonderen Bedingungen^{1, 13}, während andere⁹ dies durch einmalige Extraktion und Zusatz von Hydroxylamin erreichen. Wieder andere Autoren¹⁵ belassen den Kupferkomplex in der wäßrigen Lösung, erhöhen seine Löslichkeit aber durch Zusatz genau bestimmter Mengen von Alkohol. Die Hauptschwierigkeit bei dieser Art der Bestimmung liegt darin, daß das Verhältnis zwischen der Menge des zugesetzten Alkohols und der Menge des in der Lösung vorhandenen Kupfers konstant sein muß. Widrigenfalls erhält man wesentlich zu niedrige Werte.

Die Meinungen über die Frage der Überführung des Serumkupfers in den Ionenzustand sind ebenfalls geteilt. Manche Autoren^{11, 16} setzen das Kupfer des Serums durch Mineralisierung in Freiheit, während andere dies durch Hydrolyse mit Salzsäure¹⁵ und Fällung der Eiweißstoffe mit Trichloressigsäure erreichen. *Cartwright*⁸ vertritt die Meinung, daß das Kupfer auch ohne vorherige Behandlung des Serums mit Salzsäure in den Ionenzustand überführt werden kann, und zwar durch mehrmalige Bearbeitung des Serums mit heißer Trichloressigsäure. *Tompsett*¹⁷ und andere¹⁰ führen an, daß das Kupfer auch durch einfache Fällung der Eiweißstoffe durch kalte Trichloressigsäure quantitativ in das Filtrat übergeht. *Yoshikawa*¹⁹ und Mitarbeiter haben aber durch Anwendung von radioaktivem Kupfer nachgewiesen, daß nur $\frac{2}{3}$ des Kupfers von den Eiweißstoffen abgetrennt werden, wenn das Serum mit kalter Trichloressigsäure behandelt wird.

Da die angeführten Verfahren zur Bestimmung des Kupfers im Serum mit Diäthylthiocarbamat entweder langwierig oder aber nicht genügend verläßlich sind, haben wir versucht, zur Bestimmung des Kupfers im Serum ein Verfahren auszuarbeiten, das einen Kupferkomplex mit Diäthylthiocarbamat mit unveränderter Farbintensität der Lösung, jedoch ohne Überführung des Komplexes in organische Lösungsmittel verwendet. Diese Stabilität der Farbe des Kupferkomplexes in wäßriger Lösung haben wir durch Zusatz von 0,05%iger wäßriger Lösung von Pektin erreicht, das hier als Schutzkolloid wirkt. Durch den Pektinzusatz wird erreicht, daß die Farbintensität des Kupferkomplexes über einen Zeitraum von 12 Stunden unverändert bleibt, wodurch die genaue photometrische Messung der Farbintensität ermöglicht ist. Die Genauigkeit des Farbvergleiches wird durch dieses Verfahren in solchem Maße erhöht, daß die Gültigkeit des *Lambert-Beerschen* Gesetzes bestätigt werden konnte. Dies wurde für den Konzentrationsbereich von 0,5 bis $7 \mu\text{g}$ Kupfer in 15 ml Lösung festgestellt.

Experimenteller Teil.

Reagenzien.

1. Kupferfreies Wasser;
2. 20%ige Trichloressigsäurelösung;
3. gesättigte Lösung von analysenreinem Na-pyrophosphat;
4. in einer Glasapparatur wird analysenreines Ammoniak destilliert und in kupferfreiem Wasser bis zur Sättigung aufgefangen;
5. wäßrige Pektinlösung: 1 g Pektin wird angefeuchtet und mit 60 ml redest. Wasser von 50°C übergossen; dann wird bis zur völligen Auflösung gerührt und über Nacht stehengelassen. Danach wird das Ganze in einen 100-ml-Meßkolben übertragen und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. 5 ml dieser Pektinstammlösung werden mit Wasser auf 100 ml aufgefüllt. Das Pektin wurde aus Äpfeln gewonnen. Spez. Gew. 140,012; Äquiv. Gew. 704; Veresterungsgrad 73,54%; Reinheitsgrad 86,41%; Asche 0,23%; Wassergehalt 10,8% (*D. Sulc*, Instit. f. Ind. Forsch. Zagreb);
6. 0,2%ige Lösung von diäthylthiokarbaminsäurem Na in kupferfreiem dest. Wasser;
7. Kupfer-Standardlösung: 0,3928 g krist. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ werden in 1 Liter kupferfreiem Wasser gelöst. Diese Lösung wird nach Bedarf verdünnt.

Apparatur.

Extinktionsmessungen: Die Messungen wurden bei 440 m μ ausgeführt. Küvette 2,999 cm. Spektralphotometer Zeiss. Die Glasgeräte müssen aus Qualitätsglas sein (z. B. Jena, Wirag, Pyrex). Um Verunreinigung mit Kupfer zu verhindern, müssen alle Glasgeräte mit heißer 5-n HCl gewaschen und mit dest. Wasser ausgespült werden. Das Wasserbad muß aus Aluminium oder irgend einem anderen Metall sein, das kein Kupfer enthält, und wird mit destilliertem Wasser gefüllt.

Ausführung.

2 ml Serum werden in einem Zentrifugalglas mit 6 ml Wasser vermischt und mit 2 ml 20%iger Trichloressigsäurelösung unter Umrühren

versetzt. Das Zentrifugenglas wird für 10 Minuten in ein Wasserbad von 90 bis 95°C gestellt und nach Abkühlen auf Zimmertemperatur filtriert. Vom klaren Filtrat pipettiert man 5 ml in eine Eprovette mit einer Marke bei 15 ml und versetzt mit 1 ml Na-pyrophosphatlösung, 2 ml Ammoniak, 1 ml 0,05%iger Pektinlösung, 1 ml 0,2%iger Na-Diäthyl-dithiocarbamatlösung und füllt mit Wasser bis zur Marke. Nachdem der Inhalt gut durchgemischt wurde, wird die Extinktion gemessen.

Wenn nicht genügend Serum zur Verfügung steht, kann man nach folgendem Verfahren auch mit 1 ml Serum arbeiten. 1 ml Serum wird in einem Zentrifugenglas mit 1 ml Wasser vermischt und mit 2 ml 20%iger Trichloressigsäurelösung unter Umrühren versetzt. Das Zentrifugenglas wird für 10 Minuten in ein Wasserbad von 90° bis 95°C gestellt und nach Abkühlen auf Zimmertemperatur 10 Minuten zentrifugiert. Die klare Lösung wird in ein Zentrifugenglas mit einer Marke bei 15 ml abpipettiert, während der Niederschlag zweimal mit je 2 ml 20%iger Trichloressigsäurelösung verrieben, und jedesmal im Wasserbad je 5 Minuten erwärmt und danach zentrifugiert wird. Die oben stehenden Flüssigkeitsschichten werden mit der Hauptmenge des Zentrifugenglasinhaltes vereinigt und 1 ml Na-pyrophosphatlösung, 2 ml Ammoniak, 1 ml 0,05%ige Pektinlösung, 1 ml 0,2%ige Na-diäthyl-dithiocarbamatlösung dazugegeben und mit Wasser bis zur Marke aufgefüllt. Der Inhalt wird gut durchgemischt und die Extinktion gemessen.

Um die Verlässlichkeit unseres Verfahrens zu überprüfen, wurden zwei Reihen von Versuchen mit steigenden Konzentrationen ausgeführt. Die erste Reihe enthielt Standardlösungen von Kupfer in Wasser, die zweite im Serum. Auf diese Weise konnten wir feststellen, inwiefern die Genauigkeit dieser Methode durch Serumbestandteile beeinträchtigt wird.

Die Standardreihe umfaßte zehn verschiedene Konzentrationsbereiche zwischen 0,5 und 5 µg, die Serumreihe von 0 bis 4,5 µg. Mit jeder Konzentration der Standardreihe wurden je drei und mit der Serumreihe je vier Bestimmungen ausgeführt. Die Extinktionsmessungen wurden mit dem Zeiss-Opton Spektralphotometer unter den angegebenen Versuchsbedingungen gemessen. Die erhaltenen Werte wurden statistisch bearbeitet. Da die funktionellen Verhältnisse der verschiedenen Konzentrationen gegenüber den entsprechenden Extinktionen linear sind (Beersches Gesetz), wurden auch unsere Ergebnisse mit linearen Gleichungen (Regressionen) dargestellt. Auch wurde die Verlässlichkeit dieser errechneten Geraden überprüft. Um die zufälligen Versuchsfehler festzustellen, benutzten wir folgenden mathematischen Ausdruck⁴:

$$f = \pm 3,0902 \frac{s^2}{b^2} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \left(\frac{Y - \bar{y}}{b}\right)^2 \frac{1}{\sum (x - \bar{x})^2}}$$

Hierin bedeuten f die Verlässlichkeitsfehlergrenzen bei 99,9%, s^2 die Variante, b die Richtungskoeffizienten der linearen Gleichung, m die Zahl der Parallelbestimmungen, n die Zahl der Extinktionswerte, Y den errechneten Extinktionswert, y die gemessenen Extinktionswerte, $\bar{y} = \frac{\sum y}{mn}$, x die aus dem gefundenen Extinktionswert errechnete Kupferkonzentration und $\bar{x} = \frac{\sum x}{mn}$. In der Standardreihe wurden 10 Extinktionswerte mit 30 Einzelbestimmungen, in der Serumreihe 10 Extinktionswerte mit 40 Einzelbestimmungen gemessen.

Um die Verlässlichkeit der Unterschiede zwischen den Richtungskoeffizienten der linearen Gleichungen der Standard- und Serumreihe festzustellen, das heißt, ob die Reaktion vom Serum inhibiert wird, benutzten wir folgende Gleichung:

$$t = \frac{b_1 - b_2}{s \sqrt{\frac{1}{\sum (x_1 - \bar{x}_1)^2} + \frac{1}{\sum (x_2 - \bar{x}_2)^2}}}$$

Tabelle 1. Einzelbestimmungen von Kupfer und ihre Extinktionswerte im Wasser und Serum.

Versuch Nr.	Kupfermenge in µg	Einzelvergleichswerte der Extinktionen						
		in Wasser			im Serum			
1	0,0	—	—	—	0,085	0,085	0,083	0,083
2	0,5	0,017	0,017	0,018	0,106	0,106	0,102	0,103
3	1,0	0,038	0,039	0,038	0,124	0,123	0,121	0,122
4	1,5	0,057	0,057	0,056	0,145	0,145	0,142	0,143
5	2,0	0,077	0,077	0,077	0,150	0,155	0,160	0,155
6	2,5	0,092	0,093	0,094	0,180	0,180	0,182	0,183
7	3,0	0,110	0,111	0,111	0,195	0,195	0,190	0,191
8	3,5	0,126	0,127	0,125	0,221	0,220	0,220	0,223
9	4,0	0,143	0,145	0,144	0,231	0,232	0,232	0,232
10	4,5	0,165	0,163	0,163	0,255	0,255	0,256	0,256
11	5,0	0,182	0,182	0,182	—	—	—	—

Bestimmungen, die vom fünffachen Werte des wahrscheinlichen Fehlers einzelner Bestimmungen abweichen, wurden nicht in Betracht gezogen, da der systematische Fehler außerhalb der Zufälligkeitssgrenzen liegt.

Diskussion.

Das beschriebene Verfahren zur Bestimmung des Kupfers im Serum ist einfach und rasch. Die Resultate, die nach diesem Verfahren erhalten werden, sind sehr gut reproduzierbar unter der Voraussetzung, daß die verwendeten Gefäße und Reagenzien der geforderten Reinheit entsprechen. Die vorhergehende Hydrolyse des Serums mit Salzsäure, die manche Autoren als Vorbedingung für die quantitative Trennung des Kupfers von den Eiweißstoffen angeben, erübrigt sich. Wir haben festgestellt, daß dieselben Kupferwerte erhalten werden, gleichgültig ob man die Bestimmung mit 1 ml oder mit 2 ml Serum durchführt. Wenn genügend Serum vorhanden ist, arbeitet man besser mit 2 ml, weil das Verfahren dann kürzer ist und leichter durchgeführt werden kann. Wegen der günstigen Schutzwirkung des Pektins kommt es zu keiner Abschwächung der Farbe des Kupferkomplexes.

Durch die inhibierende Wirkung des Serums und durch die Eiweiß-fällung wurde die Farbintensität nur sehr wenig verändert (Tabelle 2).

Tabelle 2. Das Verhältnis bekannter Kupferkonzentrationen und ihrer Extinktions-Mittelwerte in 1 ml.

Versuch Nr.	Kupfer- menge in µg	Mittelwerte parallel gemessener Extinktionen		Theoretische Extinktionswerte		Unterschiede der theoretischen Extinktions- werte	Unterschiede der theoretischen Werte von den Extinktionen der Wasserreihe in %
		in Wasser	im Serum	in Wasser	im Serum		
1	0,0	—	0	—	0	—	—
2	0,5	0,017	0,020	0,020	0,018	0,002	10,0
3	1,0	0,038	0,039	0,038	0,037	0,001	2,6
4	1,5	0,057	0,061	0,056	0,054	0,002	3,6
5	2,0	0,077	0,071	0,074	0,075	— 0,001	— 1,4
6	2,5	0,093	0,097	0,092	0,094	— 0,002	— 2,2
7	3,0	0,111	0,110	0,110	0,112	— 0,002	— 1,8
8	3,5	0,126	0,137	0,128	0,131	— 0,003	— 2,3
9	4,0	0,144	0,148	0,146	0,150	— 0,004	— 2,7
10	4,5	0,164	0,171	0,164	0,169	— 0,005	— 3,1
11	5,0	0,182	—	0,182	0,188	— 0,006	— 3,3

Die Unterschiede finden sich in der dritten Dezimalstelle des durchschnittlichen Extinktionswertes; sie betragen meistens 1 bis 3% der Werte der Standardlösung. Für die Extinktionswerte der Standardlösung gilt folgende Gleichung:

$$y_1 = 0,0359 x_1 + 0,0021$$

x_1 = Kupferkonzentrationen, y_1 = Extinktion. Der Wert 0,0021 in dieser Gleichung ist zufällig, da er sich innerhalb der Grenzen des zufälligen Fehlers befindet ($\pm 0,078 \mu\text{g/l ml}$). Deshalb stellt diese lineare Gleichung eine Gerade dar, die durch den Ausgangspunkt des Koordinatensystems geht (Abb. 1).

Die Extinktionswerte des Kupfers im Serum geben folgende lineare Gleichung:

$$Y_2 = 0,0376 x_2 + 0,0846.$$

y_2 = Serumkupferkonzentration, x_2 = Extinktion. Die Konstante 0,0846 ist signifikant und stellt den Extinktionswert des nativen Kupfers im Serum dar; sie wird von den theoretischen, bzw. experimentell ermittelten Extinktionswerten abgezogen, um die Kupfermenge, die dem Serum zugesetzt wurde, zu erhalten (Tabelle 2).

Dieses Vorgehen scheint uns richtiger zu sein, als das Abziehen des experimentell ermittelten Wertes für das native Kupfer im Serum von den höheren Werten derselben Reihe, vor der Ausgleichsrechnung der Extinktionswerte für die betreffende Gleichung. Der Unterschied zwischen den Richtungskoeffizienten beider Gleichungen ist signifikant, nach der Distribution von „Student“ ($P = 0,009$), aber er ist sehr gering.

Die Verlässlichkeitsgrenzen nahmen wir mit 99,9% Wahrscheinlichkeit (Tabelle 3), das heißt, daß von 1.000 ermittelten Extinktionswerten nur einer dieselben überschreiten kann.

Tabelle 3. Die Verlässlichkeitsgrenzen der Extinktionswerte im Wasser und Serum pro ml (bei 99,9%; 3,0902mal mittlerer Fehler).

Versuch Nr.	Kupfermenge in μg	Die Verlässlichkeitsfehlergrenze bei der Wahrscheinlichkeit 99,9 % in $\mu\text{g Cu}$	
		in Wasser	im Serum
1	0,0	0,0782	0,0179
2	0,5	0,0763	0,0173
3	1,0	0,0739	0,0170
4	1,5	0,0720	0,0167
5	2,0	0,0705	0,0164
6	2,5	0,0698	0,0164
7	3,0	0,0698	0,0167
8	3,5	0,0705	0,0170
9	4,0	0,0720	0,0173
10	4,5	0,0739	0,0179
11	5,0	0,0763	0,0185

Diese Verlässlichkeitsgrenzen sind für mittlere Kupferkonzentrationen im Wasser $\pm 0,0698$ bis $\pm 0,0782 \mu\text{g/ml}$; im Serum $\pm 0,164$ bis $\pm 0,0179 \mu\text{g/ml}$; die kleinsten Werte liegen für beide Konzentrationsreihen bei $2,5 \mu\text{g/ml}$. (Abb. 2).

Diese Fehler ausgedrückt in Prozenten der betreffenden Konzentrationen betragen meistens 1 bis 4% und sind niedriger bei Serumreihe (Abbildung 3). Daraus geht hervor, daß diese Arbeitsmethode mit großer Genauigkeit für Kupferbestimmungen im Serum anwendbar ist.

Herrn Dr. M. Bajzer vom Zentralen Hygieneinstitut in Zagreb danken wir für die statistische Bearbeitung der Untersuchungen auch an dieser Stelle bestens.

Zusammenfassung.

Das Pektin ist als Schutzkolloid zur Stabilisierung der Farbe des Kupferkomplexes ausgezeichnet anwendbar. Die Fehlergrenzen bei der Bestimmung des Kupfers in wäßrigen und in Serum-Lösungen sind gering. Die Unterschiede zwischen den ermittelten Extinktionswerten in wäßrigen und Serum-Lösungen sind zwar signifikant, aber doch so gering, daß sie vernachlässigt werden können.

Das beschriebene Verfahren ist empfindlich, einfach und auch serienweise leicht mit großer Genauigkeit ausführbar.

Literatur.

- ¹ I. Abelin, Spezielle klinische chemische Methoden. Bern: Huber. 1952.
- ² L. Braun und L. Schaffer, Biochem. Z. **304**, 397 (1940).
- ³ C. E. Cartwright, P. J. Jones und M. M. Wintrobe, J. Biol. Chem. **160**, 593 (1945).
- ⁴ O. L. Davies, Statistical Methods in Research and Production. London: 1945.

- ⁵ A. Eden und H. M. Green, *Biochemic. J.* **34**, 1202 (1940).
- ⁶ B. Eisler, K. G. Rosdahl und H. Theorell, *Biochem. Z.* **286**, 435 (1936).
- ⁷ K. Hinsberg und K. Lang, *Medizinische Chemie*. 2. Aufl. München: Urban u. Schwarzenberg. 1951. S. 25.
- ⁸ J. Hoste, A. Heiremans und J. Gillis, *Mikrochem.* **36/37**, 349 (1951).
- ⁹ Kerijiro Kimura und Jerkio Murakami, *Mikrochem.* **36/37**, 958 (1951).
- ¹⁰ A. Locke, E. R. Mein und D. O. Rosbach, *J. Clin. Investigation* **11**, 527 (1937).
- ¹¹ W. D. McFarlane, *Biochemic. J.* **26**, 1022 (1932).
- ¹² R. H. Müller und A. T. Burtzell, *Mikrochem.* **28**, 209 (1939).
- ¹³ J. C. Robinson, *J. Biol. Chem.* **179**, 1103 (1949).
- ¹⁴ G. Roussel und Z. Gruzewska, *Bull. soc. chim. biol.* **20**, 365 (1938).
- ¹⁵ H. G. Schmidt, *Biochem. Z.* **302**, 256 (1939).
- ¹⁶ J. Schweibold und A. Lesmüller, *Biochem. Z.* **301**, 331 (1939).
- ¹⁷ S. L. Tompsett, *Biochemic. J.* **28**, 1544 (1934).
- ¹⁸ P. E. Wenger, *Mikrochem.* **29**, 210 (1941).
- ¹⁹ H. Yoshikawa, P. F. Hahn und W. F. Bale, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* **49**, 285 (1942).

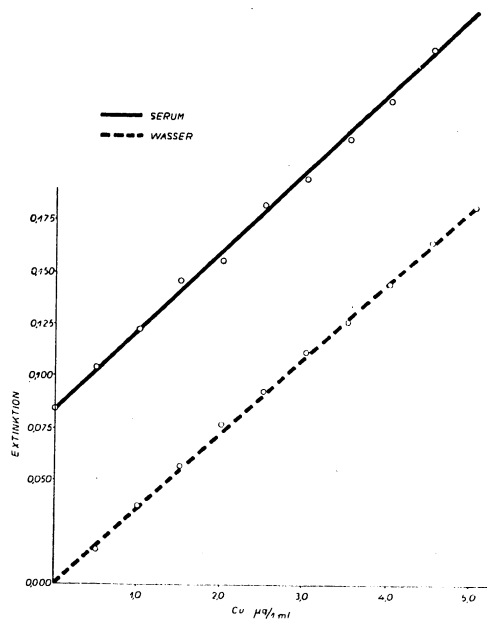
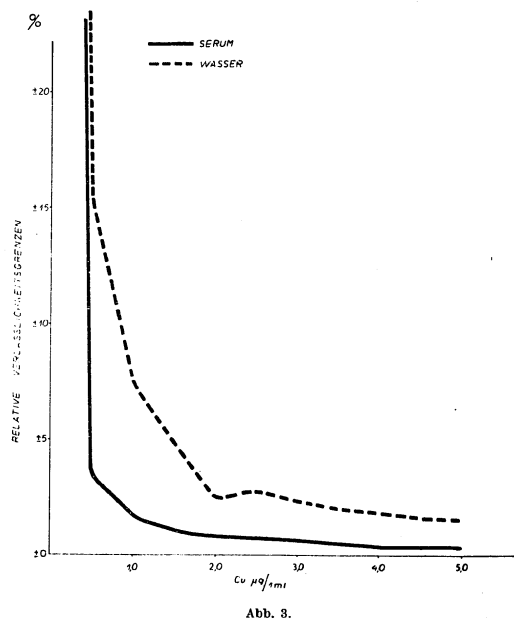
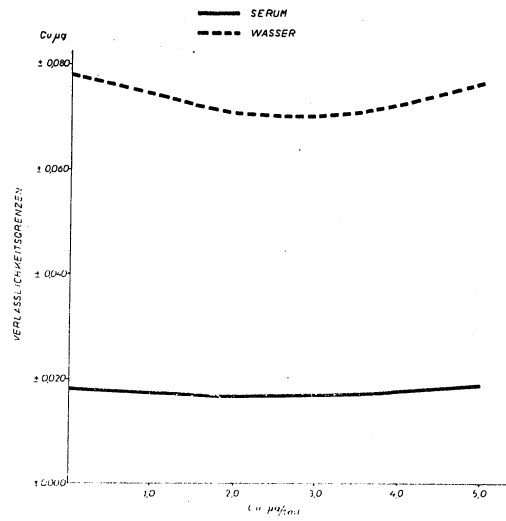


Abb. 1.



Mikrochimica Acta (Tagung).
O/87.

Zeilenanzahl: 593.

Applications de la photométrie de flamme à l'analyse des éléments différents aux alcalins et alcalino-terreux.

Par

F. Burriel-Martí, J. Ramírez-Muñoz et M. C. Asunción-Omarrementería.

Avec 10 figures.

(Reçu le 17 mai 1955.)

I. Introduction.

Depuis quelques années nous avons poursuivi des nouvelles méthodes et des améliorations des méthodes déjà employées pour le dosage des éléments métalliques des alliages et spécialement dans les aciers. Nous avons développé des méthodes analytiques par volumétrie, spectrophotométrie, polarographie et spectrographie et, finalement, nous avons étudié aussi des applications de la photométrie directe des émissions de la flamme — c'est à dire, la *photométrie de flamme* — au dosage de quelques métaux dans les alliages spéciaux.

On ne peut pas dire que la photométrie de flamme pourrait rivaliser toujours avec d'autres sources d'excitation, parmi lesquelles on trouve l'arc et l'étincelle, mais sans arriver à une substitution complète de ces sources dans tous les problèmes analytiques à résoudre par voie spectrale, elle nous permet d'avoir un précieux complément instrumental dont les principales qualités sont une remarquable simplicité pour la préparation des échantillons et pour la mesure, la rapidité et l'économie.

Les méthodes analytiques par photométrie de flamme ont été acceptées universellement pour les dosages de sodium, potassium et calcium dans les échantillons biologiques ou minéraux, mais leurs applications pour l'analyse d'autres éléments ne sont pas si fréquentes^{2, 7, 9}. À côté des métaux alcalins et des alcalino-terreux ci-haut nommés, la photométrie de flamme permet des mesures de métaux facilement excitables avec la flamme: des alcalins (lithium, rubidium, caesium), des alcalino-terreux (strontium, barium), et aussi magnésium, thallium, manganèse, fer, cuivre, argent etc. Parmi ces éléments il y a quelques métaux dont la sensibilité est si petite qu'il ne nous suffit pas l'enregistrement instantané quand sa concentration relative dans les échantillons est très étendue et on a besoin, dans ces cas, de l'enregistrement photographique des émissions sur la plaque avec le spectrographe.

Avec la mesure directe on ne peut pas avoir des données quantitatives pour des éléments peu excitables et ils doivent être décelés et enregistrés au moyen d'expositions assez longues, qui donnent des raies spectrales de noircissement suffisant.

Cependant ces indications, les méthodes de flamme sont applicables aux dosages de nombreux éléments métalliques fréquents dans les alliages et produits métallurgiques. Les difficultés de la détermination de ces éléments par photométrie de flamme dans ces matériaux, sont principalement influencé par trois facteurs: 1) Sa petite sensibilité dans la flamme — ce qui rend impossible le dosage de très petites teneurs dans les échantillons ou de très petites concentrations dans les solutions préparés —, 2) l'existence dans les échantillons liquides des divers métaux qui donnent très nombreux raies et bandes spectraux — ce qui produit des interférences par position —, et 3) la grande concentration de certains macro-constituants des échantillons qui provoquent des interférences par variation de l'émission de l'élément d'analyse, par production de fond de flamme ou par superposition des raies ou des bandes pendant la mesure expérimentale avec le photomètre.

Nous pourrions trouver des exemples de tous ces cas particuliers dans l'analyse des éléments qui accompagnent au fer dans les aciers spéciaux.

Nous avons essayé de doser quantitativement par photométrie de flamme les éléments cobalt, nickel, chrome et manganèse dans les aciers. Les déterminations seront correctes quand les constituants sont contenus en grande concentration dans les échantillons originaux et qu'il soit permis de les manipuler à une concentration suffisamment élevée dans les solutions préparées pour l'analyse.

Les modes opératoires que nous avons employés peuvent étendre les possibilités de dosage dans un intervalle de concentration très étendue. (Intervalle de concentration dans les solutions préparées.) De même la teneur de ces éléments dans les échantillons peut être admise dans un intervalle de grande extension aussi.

L'étude de ce problème nous a établi la suivante distribution de nos travaux: l'étude de la détermination particulière de chaque élément, la séparation préalable des macro-constituants (le fer dans notre cas des aciers), l'étude du problème des interférences, la séparation préalable des éléments d'analyse qui provoquent excessive interférence, et les systèmes de mesure et de correction.

Dans cette communication nous avons résumé les différentes étapes mentionnées ci-dessus et les résultats obtenus dans l'étude de ces éléments par la méthode de photométrie de flamme.

II. Technique expérimentale.

1. Appareils.

Nous avons utilisé dans ces travaux le spectrophotomètre de flamme Beckman DU, n° 9200, avec des phototubes non multiplicateurs, le brûleur étant alimenté par un mélange d'oxygène et d'acétylène.

a) Pressions.

Le contrôle des débits et des pressions de l'acétylène a été réglé en considérant la pression de régime nécessaire pour maintenir un écoulement critique de l'oxygène pour transporter les échantillons liquides pendant l'alimentation de la flamme. La pression de l'oxygène est donnée comme une fonction des constantes de fabrication du brûleur. Les valeurs les plus convenables des pressions d'alimentation ont été 10 livres par pouce carré pour l'oxygène et 5 pour l'acétylène. Les bouteilles des gaz ont été munies de mano-détenteurs doubles avec des valves de membrane et de pointeau. L'écoulement constant de l'oxygène et de l'acétylène a été réglé aussi par le dispositif de détente Beckman.

b) Fente.

La largeur de la fente a été conditionnée par la limite supérieure des intervalles expérimentaux de concentration. Nous avons eu besoin de fentes assez larges pour les éléments nickel, cobalt et chrome dont la sensibilité est plus petite par rapport au manganèse, ce qui a augmenté les probabilités d'interférences par position, déterminées par l'apparition des phénomènes de chevauchement des raies et des bandes. En outre l'on observe une diminution de la résolution et l'apparition de fonds de flamme très intenses. Une fente trop étroite aurait limité excessivement la sensibilité des mesures et aurait rétréci les limites des intervalles de concentration utilisables.

c) Longueur d'onde.

Les valeurs de la longueur d'onde sont données dans le Tableau I vis-à-vis de ceux de la largeur de la fente et des concentrations utilisées dans nos travaux.

Nous avons représenté dans la Fig. 1 les courbes expérimentales des spectres d'émission des éléments analysés, qui ont été obtenus sous les conditions opératoires décrites.

2. Courbes d'étalonnage.

On a préparé deux séries de solutions étalons pour chaque élément

d'analyse:

- a) Solutions étalons aqueuses des sels (Ni^{II} , Co^{II} , Mn^{II} et Cr^{III}).
- b) Solutions étalons aqueuses acides (6 ml de SO_4H_2 concentré pour chaque 100 ml de solution) des mêmes sels avec 30 p. p. m. de fer.

Tous les deux avec une limite supérieure de concentration égale à celle exprimée dans le Tableau I et successives dilutions dans les rapports $\frac{1}{2}$, $\frac{1}{5}$ et $\frac{1}{10}$ de la concentration initiale.

Ce nous a donné 8 séries de solutions étalons, deux pour chaque élément, dont les solutions acides ont une teneur finale de 30 p. p. m. de fer, égale à celle de l'étalon initial.

Les courbes d'étalonnage ont été représentées dans la Fig. 2. Celles à traits discontinus correspondent aux solutions aqueuses sans addition de l'acide sulfurique et du fer.

Les mesures expérimentales obtenues avec les solutions analysées sont portées sur les courbes d'étalonnage pour avoir des résultats en p. p. m.

3. Extraction.

a) Séparation préalable du fer par extraction.

On a vérifié expérimentalement quelques solvants organiques pour l'extraction du fer par distribution entre deux phases liquides non miscibles (l'éther, l'éther isopropylique et l'éther dichloroéthylique). L'extraction a été réalisée toujours sur des solutions chlorhydriques de 1 g de fer dans 100 ml initiaux, avec une teneur de ClH 8N environ.

Parmi les solvants vérifiés, l'éther isopropylique nous a donné des meilleurs résultats.

L'extraction avec l'éther éthylique ne permet pas des récupérations si quantitatives. Kuemel et Karl⁸ ont trouvé des concentrations résiduelles de 300 p. p. m. de fer après les extractions avec de l'éther dans l'étude des éléments alcalins et alcalino-terreux dans des échantillons métallurgiques par photométrie de flamme. Dans les travaux de ces auteurs, une teneur de 300 p. p. m. n'a pas des effets importantes, mais cette teneur nous pourrait produire un abaissement de la sensibilité et de la précision pour les dosages du cobalt, nickel et chrome spécialement.

L'éther dichloroéthylique ne se prête pas à une séparation instantanée des deux couches liquides. Ce qui produit un retard considérable pendant la préparation initiale des échantillons.

Les conditions de température, d'acidité, les volumes initiaux, les quantités de solvant, le nombre des agitations et la durée de l'agitation ont demeuré strictement constantes à fin d'éviter des variations du coefficient de distribution. Ses variations peuvent être effectuées, en outre, par des effets dus aux sels de la solution et peuvent donner des concentrations supérieures de fer dans les solutions déjà agitées avec le solvant.

En tout cas on a mesuré les teneurs résiduelles de fer avec un spectrophotomètre Beckman DU par colorimétrie du fer par la méthode du complexe Fe^{III} -salicylate, que nous avons utilisée dans quelques travaux déjà publiés^{4, 5}.

L'éther isopropylique a été utilisé aussi comme solvant pour la séparation du fer dans des échantillons analysés par spectrographie d'émission et pour la séparation du fer et son dosage par photométrie de flamme dans des échantillons de sels qui ont aussi des concentrations variables de cobalt, manganèse et cuivre, c'est à dire, des métaux aussi excitables par la flamme^{6, 11}.

b) Séparation préalable du nickel par extraction.

Les échantillons liquides privés du fer par extraction ont été préparés d'abord au moyen d'une nouvelle méthode de séparation; cette fois pour la séparation du nickel.

Le nickel est précipité avec la diméthylglyoxime; on ajoute du citrate d'ammonium (ou de l'acide citrique et de l'ammoniaque) et on retire le précipité par extraction avec du chloroforme. La solution agitée avec le chloroforme doit être légèrement ammoniacale.

Le nickel est éliminé de nouveau de la solution chloroformique par

agitation avec l'acide chlorhydrique 5 N. On ajoute un peu de l'acide sulfurique et de l'acide nitrique (Quantité suffisante pour rendre la solution à peu près 4 N) et on détruit le résidu de matière organique qui reste après ces opérations*. Cette solution peut être mesurée directement dans

* On peut retirer l'excès de diméthylglyoxime en agitant la solution chlorhydrique avec de l'éther.

le photomètre.

On ajoute du citrate d'ammonium et non du citrate de sodium pour éviter le sodium dans les solutions qui doivent être mesurées par photométrie de flamme. Des petites quantités de sulfate d'ammonium qui restent en solution n'affectent pas les dosages. Une teneur considérable de sels d'ammonium peut affaiblir les émissions.

c) Effet de la séparation du nickel par extraction.

On a vérifié la méthode de séparation du nickel avec des échantillons synthétiques. La récupération a été comprise entre + 6,0 et + 3,0% avec des solutions d'une concentration de 1000 à 600 p. p. m. de nickel. Dans ces expériences on retire le nickel des solutions sur lesquelles on a fait d'abord une extraction préalable du fer. Donc l'erreur correspond à deux extractions.

d) Effets des séparations par extraction sur les autres éléments.

Nous avons mesuré dans des solutions synthétiques les concentrations des éléments cobalt, chrome et manganèse après d'avoir fait l'extraction du fer. Avec une seconde série d'échantillons synthétiques on a dosé les teneurs des mêmes éléments après l'extraction du nickel avec la diméthylglyoxime et du chloroforme. On a résumé les résultats dans le Tableau II.

La diminution de la concentration du cobalt après avoir retiré le nickel peut être retrogradée si on opère par double précipitation avant de faire l'extraction de la diméthylglyoxime nickélique. Les erreurs dans les mesures du nickel sont diminuées aussi.

4. Etude des interférences.

a) Etude des interférences dans les solutions aqueuses.

Nous avons réalisé une étude préalable des interférences des éléments d'analyse dans des mélanges binaires en solution aqueuse et aussi des interférences de chacun de ces éléments et du fer.

α) Mélanges binaires des éléments d'analyse.

Pour obtenir des résultats on a utilisé des solutions aqueuses des sels sans ajouter de l'acide sulfurique et du fer. On a étudié les interférences dans quatre systèmes de courbes expérimentales qui représentent:

1° Des p. p. m. trouvées expérimentalement de chaque élément en fonction des p. p. m. théoriques du même élément, ce qui nous donne des systèmes de courbes divergentes (Une courbe pour chaque concentration d'élément interférent).

2° Des p. p. m. expérimentales de l'élément d'analyse en fonction des p. p. m. de l'élément interférent, ce qui nous donne des systèmes de courbes séparées des niveaux horizontaux (Une courbe pour chaque concentration de l'élément d'analyse).

3° Des pourcentages d'erreur (des données moyennes) sur les valeurs des teneurs théoriques en fonction des p. p. m. de l'élément interférent.

4° Des pourcentages d'erreur (des données moyennes) sur les valeurs des teneurs théoriques en fonction du rapport p. p. m. de l'élément interférent/p. p. m. de l'élément d'analyse.

Dans la Fig. 3 et suivantes on a représenté quelques systèmes de courbes correspondant aux paragraphes énumérés ci-dessus*.

* Une collection complète des courbes d'interférence est donnée dans la thèse de Mlle. M. C. Asunción¹.

Les concentrations absolues de ces éléments, employées pour établir

un intervalle de suffisante amplitude des teneurs affectées par les interférences, sont détaillées dans le Tableau III.

Résultats. De cet étude préalable on est arrivé à une série de conclusions concernant les effets de chaque élément sur les autres, et d'abord on observe une exaltation des radiations enregistrées, avec l'exception des cas où on a mesuré l'influence du nickel ou du cobalt sur le manganèse. (Voir les Fig. 3 à 6.) Voici les résultats :

1° Le nickel est interféré fortement par le chrome et aussi, selon un rapport décroissant, par le cobalt et le manganèse.

2° Le cobalt est interféré et exalté particulièrement par le nickel et aussi par le manganèse et le chrome.

3° Le chrome par le manganèse d'abord et après par le cobalt et le nickel, et, finalement.

4° Le manganèse par le chrome, le cobalt et le nickel dans cet ordre décroissant.

Les troubles produits par le nickel sur le cobalt, spécialement, et sur les autres métaux et ceux qui sont produits par ces autres métaux sur le nickel nous ont déterminés à faire la séparation préalable, ce que nous avons décrit. On peut donc profiter de l'avantage de la séparation du nickel et on supprime ainsi l'influence des autres métaux sur ce dernier et sa propre interférence de position et radiation sur les composants métalliques de la solution primitive. (Voir plus loin.)

Si on mesure des teneurs de nickel ou de cobalt tout ensemble il serait impossible d'arriver à une complète définition ou séparation totale des émissions plus intenses, parce qu'on devrait employer des fentes trop étroites. Dans ces conditions la sensibilité deviendrait si affaiblie que l'on ne pourrait pas arriver aux dosages des petites teneurs.

Pour d'autres éléments l'interférence par position, c'est à dire, par chevauchement des émissions à la même longueur d'onde, n'est pas si remarquable, car il n'y a pas des superpositions totales, mais elle nous produit encore des interférences observables, comme résultat des émissions placées près de l'émission mesurée dans l'appareil et aussi des fonds de flamme produits par des bandes larges, qui correspondent aux autres éléments métalliques en solutions lesquelles peuvent être placées près ou sous la raie ou bande qu'est mesurée.

On ne doit pas oublier qu'il y a de raies qui sont décelées comme une bande ou une inflexion du fond, parce qu'on ne peut pas les séparer avec des fentes trop larges, comme on peut observer dans la Fig. 1, où il y a des bandes expérimentales qui sont véritablement des courbes apparentes produites par un ensemble de raies très proches.

β) Mélanges binaires des éléments d'analyse avec le fer.

Nous avons supposé d'abord que nous aurions besoin d'une séparation préalable du fer.

Le séparation du fer pourrait être mise au point au moyen des extractions en solution fortement chlorhydrique par des solvants organiques, mais des nombreuses extractions nous prolonge excessivement le temps de préparation des échantillons et aussi peut provoquer un abaissement de la concentration de certains éléments d'analyse, si on perd des fractions de solution aqueuse pendant la séparation des couches liquides.

On doit donc effectuer une extraction ou deux, si l'on peut extraire ainsi la plupart du fer et seulement reste dans la phase aqueuse une petite quantité de ce métal, surtout si on observe que des faibles concentrations de fer ne provoquent des grands effets sur les mesures des autres composants.

Nous avons obtenu des résultats avec des séries de solutions contenant de fer et chacun des éléments d'analyse. Les concentrations du fer dans les solutions préparées ont été supérieures à celles que l'on pourrait trouver comme teneur résiduelle après l'extraction du fer avec des solvants organiques.

L'effet du fer sur les valeurs théoriques des autres éléments est représenté par la séquence croissante $Cr < Mn < Co < Ni$. (Voir Fig. 7.)

b) *Etude des interférences dans les solutions acides.*

On a étudié les interférences produits par les éléments d'analyse cobalt, chrome et manganèse dans les mesures mises au point avec des solutions prélevées de nickel, les solutions étant acides et ayant une teneur de 30 p. p. m. de fer.

a) *Mélanges binaires de deux éléments d'analyse.*

Les intervalles de concentration pour ces expériences sont donnés dans le Tableau IV.

On a trouvé, en général, des augmentations des radiations de l'élément dosé produits par le second métal. Les interférences ont été placées sous le même régime que ceux observées pour les solutions aqueuses non acides. (Voir plus haut.) Il y a cependant des différences. Ce sont, par exemple l'influence $Mn > Cr$ sur le cobalt, laquelle est inversée en solution acide: $Cr > Mn$.

Les valeurs expérimentales ont été représentées en fonction des p. p. m. de l'élément interférent sur des échelles double logarithmiques¹⁰. On a des séries de courbes rectilignes de pente différente est d'autant plus grande que la concentration absolue de l'élément d'analyse dans les solutions, que sa concentration relative par rapport à celle de l'élément interférent est plus petite.

L'équation de ces courbes est une fonction linéaire donnée par l'expression:

$$\log F = \log \frac{p. p. m. E. A.}{p. p. m. T. E. A.} = m \log \frac{p. p. m. E. I.}{p. p. m. T. E. I.}$$

En tout cas on utilise une valeur limite de p. p. m. de l'élément interférent égal à 2% de la concentration supérieure.

On suppose que cette petite concentration n'affecte pas les dosages de l'élément à analyser*. (Voir Fig. 8.)

* Nous avons rédigé des travaux plus détaillés en ce qui concerne ces méthodes de correction^{2,3}.

Pour chaque valeur de l'élément interférent des diverses valeurs de la constante m sont applicables, ce qui donne une série de courbes montrant représentations graphiques m en fonction des p. p. m. de l'élément d'analyse. On peut faire la correction au moyen de ces courbes. (Fig. 9.)

On peut calculer des valeur du facteur F avec l'équation antérieure, les valeurs théoriques p. p. m. de l'élément d'analyse — p. p. m. $T. E. A.$ — étant obtenues en divisant les valeurs expérimentales — p. p. m. $E. A.$ — par le facteur F .

β) *Mélanges ternaires des trois éléments d'analyse.*

Les valeurs expérimentales obtenues de chacun des éléments sont affectées par l'influence partielle des deux éléments qui l'accompagnent en solution. On ne doit pas considérer des influences additives, mais on est arrivé près des résultats théoriques avec une précision suffisante, en faisant des corrections avec des facteurs calculés à partir des deux, facteurs obtenues par les courbes de correction^{1,3}.

5. Mode opératoire.

a) *Dissolution de l'échantillon.*

Attaquer 1 g d'acier dans un bécher par 60 ml ClH conc. Chauffer légèrement. Ajouter 30 ml NO_3H conc. Chasser les vapeurs nitreuses par chauffage. Concentrer par évaporation et ajouter de l'eau jusqu'à 100 ml. Filtrer la solution froide par un filtre sec. Laver. Concentrer jusqu'à 8 ml par évaporation sur une plaque métallique chauffée.

b) *Acidité.*

Ajouter 15 ml ClH 12N. Porter jusqu'à 25 ml.

c) *Extraction du fer.*

Passer à une ampoule à décanter (avec les 15 ml ClH , voir plus haut). Verser 25 ml de l'éther isopropylique. Agiter énergiquement pendant

15 minutes. Décantier. Recommencer l'opération après avoir évaporé, et réglé l'acidité. Chasser l'excès de l'éther de la couche aqueuse séparée. Porter à 100 ml.

d) Séparation du nickel.

On prend 50 ml (avec des échantillons de petite teneur on peut prendre 100 ml). Concentrer à 10 ml. Ajouter 0,5 g d'acide citrique et rendre la solution légèrement ammoniacale avec de l'ammoniaque conc. Ajouter 25 ml de solution de diméthylglyoxime (1% dans l'alcool). Si l'on doit répéter la précipitation, ajouter de nouveau l'acide citrique et l'ammoniaque après avoir décanté et dissous. Verser dans une ampoule à décantier et ajouter 30 ml de chloroforme. Agiter énergiquement pendant 2 minutes. Laver la couche chloroformique avec un volume égal d'ammoniaque (1:50). On peut faire d'extractions comme la précédente, avant de laver jusqu'à avoir la couche chloroformique sans coloration. Agiter la couche chloroformique 3 fois avec 50 ml ClH 5N. Agiter la solution acide avec 20 ml de l'éther éthylique. Chasser l'éther. Minéraliser la solution avec 3 ml SO_4H_2 conc. et une quantité suffisante de NO_3H en petites portions. Réduire la volume par évaporation et chasser les vapeurs nitreuses jusqu'à apparitions de fumées blanches. Diluer jusqu'à 50 ml.

e) Dosage du nickel.

Faire la détermination dans le photomètre.

f) Préparation de la solution des autres éléments.

Joindre les couches aqueuses de l'extraction avec du chloroforme et la solution ammoniacale de lavage. Agiter avec 20 ml de l'éther. Chasser l'éther. Minéraliser comme décrit plus haut. Chauffer, chasser les vapeurs nitreuses et concentrer. Diluer jusqu'à 50 ml.

g) Dosages du Co, Cr et Mn.

Faire les mesures dans le photomètre. Calculer les valeurs expérimentales par correction des mesures.

III. Résultats.

Dans les tableaux V, VI et VII sont donnés quelques résultats obtenus avec des échantillons d'acier qui ont été analysés par les méthodes décrites. Les valeurs expérimentales sont comparées avec celles obtenues par voie chimique.

Des valeurs avec* sont des résultats non corrigés.

* Les intervalles données dans le Tableau I nous permettent de faire des analyses jusqu'à teneurs très hautes des échantillons si on dissout 1 g d'acier et on porte jusqu'à 100 ml.

Les plus faibles concentrations mesurables sont à peu près le 1% des limites supérieures des séries d'étalons. Les meilleurs dosages seront ceux des échantillons compris entre l'étalon 1/1 et le 1/10. Les mesures des teneurs plus faibles sont obtenues avec des erreurs plus grandes que le $\pm 10\%$.

IV. Discussion.

Avec les méthodes décrites ci-haut on peut arriver à la détermination particulière et simultanée de quelques éléments fréquents dans les aciers par photométrie de flamme.

La précision et l'exactitude des résultats ne sont pas si parfaites que celles que l'on peut obtenir par voie chimique, mais les valeurs expérimentales ne dépassent pas dans les erreurs permises dans la photométrie de flamme. On a l'avantage de la rapidité des mesures et de pouvoir mettre au point des nombreuses analyses en série. On peut aussi limiter le nombre des séparations nécessaires à la préparation de l'échantillon dans quelques cas particuliers. (Aciers sans nickel ou avec des très faibles teneurs de ce métal.)

On peut faire aussi des déterminations simultanées de divers éléments dans la même solution.

Les interférences très petites sont dues à d'autres facteurs, car l'effet de l'acidité chlorhydrique, est éliminée par l'acide sulfurique.

Les aciers contenant du vanadium, du molybdène et du tungstène seront étudiés (ultérieurement).

Tableau I. Concentrations, fente et longueur d'onde.

Élément	Concentration p. p. m.	Fente mm	Longueur d'onde m μ
Co	De 0 à 1000	0,7	353,0
Ni	De 0 à 3000	0,6	325,5
Cr	De 0 à 4000	0,4	425,4
Mn	De 0 à 1000	0,3	403,3

Tableau II. Effets des extractions.

Élément	Concentration p. p. m.	Effets
Co	100	Valeurs légèrement affaiblies en moins du 10%
Cr	500	Aucun
Mn	100	Aucun

Tableau III. Intervalles de concentration.

Élément	Intervalle p. p. m.
Co	De 20 à 500
Ni	De 60 à 1500
Cr	De 80 à 2000
Mn	De 20 à 500

Tableau IV. Intervalles de concentration.

Élément	Intervalle p. p. m.
Co	De 50 à 500
Cr	De 500 à 2000
Mn	De 50 à 500

Tableau V. Déterminations de nickel dans les aciers*.

Échantillon	Pourcentage		Différences
	Voie Chimique	Photométrie	
1	0,68	0,61	- 0,07
		0,60	- 0,08
		0,62	- 0,06
		0,52	- 0,16
2	1,04	0,90	- 0,14
		1,17	0,13
		0,91	- 0,13
		1,11	0,07
3	2,32	2,13	- 0,19
		1,96	- 0,36
		1,95	- 0,37
		1,84	- 0,48
4	3,46	3,60	0,14
		3,42	- 0,04
		3,18	- 0,28
		2,88	- 0,58
		3,18	- 0,28

* Ces résultats n'ont pas besoin de correction car ils sont obtenus après avoir séparé le nickel. Les diverses valeurs expérimentales correspondent à des échantillons différents.

Tableau VI. Déterminations de manganèse dans des aciers et dans des alliages ferro-manganèses.

Échantillon	Pourcentage		Différences
	Voie Chimique	Photométrie	
4	0,70	0,64	- 0,06
		0,76	0,06
5 (F-M.)	47,5	45,5	- 2,0
		46,0	- 1,5
		44,0	- 3,5
		45,6	- 1,9
6 (F-M.)	77,9	66,7	- 11,2
		70,0	- 7,9
		64,8	- 13,1
		71,0	- 6,9

Tableau VII. Déterminations de Ni, Co, Mn et Cr dans les aciers.

Échant.	Ni			Co			Mn			Cr		
	Pourcentages		Diff.	Pourcentages		Diff.	Pourcentages		Diff.	Pourcentages		Diff.
	V. C.	Ph.		V. C.	Ph.		V. C.	Ph.		V. C.	Ph.	
5	2,46	2,61	0,15				0,48	0,56	0,08	0,70	0,48	-0,22
		2,46	0,0					0,48	0,0		0,96	0,26
		2,40	-0,06					0,57	0,09		0,64	-0,06
		2,40	-0,06					0,57	0,09		0,76	0,06
								0,57	0,09		0,76	0,06
6								0,53	0,05		0,77	0,07
				4,90	4,19	-0,71	0,42	0,52	0,10	4,75	4,37	-0,38
					4,30	-0,60		0,56	0,14		4,09	-0,66
					3,52	-1,38		0,68	0,26		4,50	-0,25
					5,65	0,75		0,70	0,28		4,73	-0,02
					4,28	-0,62		0,49	0,07		4,07	-0,68
					4,34	-0,56		0,49	0,07		4,39	-0,36

Résumé.

On a étudié les possibilités de l'usage du photomètre de flamme pour la détermination quantitative de quelques éléments fréquents dans diverses alliages ferreux. Parmi ces éléments on a étudié spécialement le cobalt, le nickel, le chrome et le manganèse. La sensibilité de ces éléments dans les méthodes de photométrie de flamme est petite et leur émissions sont affectées par la grande concentration du fer des échantillons, même dans les aciers avec des teneurs élevées de nickel et de chrome. On doit donc faire une séparation préalable du fer, que nous avons effectuée par extraction avec des solvants organiques, ayant étudié de même les récupérations quantitatives des autres métaux dans les solutions privées de fer. D'autre part on a étudié les interférences mutuelles de ces éléments pour arriver à des conclusions sur les erreurs que peuvent apparaître au cours des mesures. On discute aussi la séparation préalable du nickel et les modes opératoires. Quelques résultats sont donnés sur l'analyse de divers échantillons d'acier et de ferromanganèse. Les différences entre les valeurs photométriques et obtenues par voie chimique sont aussi indiquées.

Zusammenfassung.

Die Möglichkeit der Verwendung der Flammenphotometrie zur quantitativen Bestimmung einiger Elemente, die sich häufig in Eisenlegierungen finden, wurde untersucht. Besonders Kobalt, Nickel, Chrom und Mangan wurden hierbei in Betracht gezogen. Die Empfindlichkeit der Flammenphotometrie für diese Elemente ist gering. Deren Emission wird durch hohe Eisenkonzentrationen beeinträchtigt, auch wenn der Gehalt an Nickel und Chrom im Stahl beträchtlich ist. Daher muß das Eisen vorher abgetrennt werden. Dies wurde durch Extraktion mit organischen Lösungsmitteln durchgeführt, da festgestellt werden konnte, daß sich die übrigen Elemente in den von Eisen befreiten Lösungen quantitativ auffinden lassen. Weiters wurde die gegenseitige Störung dieser Elemente untersucht, um auf allenfalls dadurch bedingte Fehler aufmerksam zu werden. Die vorhergehende Abtrennung des Nickels und die dazu geeigneten Methoden werden erörtert. Einige Analyseergebnisse von verschiedenen Stählen und Mangan-Eisen-Legierungen werden angeführt. Die sich zwischen photometrischer und chemischer Analyse ergebenden Differenzen werden angegeben.

Bibliographie.

- ¹ M. C. Asunción-Omarrementeria, Thèse, Faculté de Sciences, Univ. Madrid. (En préparation.)
- ² F. Burriel-Martí et J. Ramírez-Muñoz, Photométrie de flamme. Rapports du C. S. I. C. de Espagne. (À paraître.)
- ³ F. Burriel-Martí et J. Ramírez-Muñoz, Quim. e Industria. (À paraître.)
- ⁴ F. Burriel-Martí, J. Ramírez-Muñoz et E. Fernandez-Caldas, Analyt. Chemistry 25, 583 (1953).
- ⁵ F. Burriel-Martí, J. Ramírez-Muñoz et E. Fernandez-Caldas, An. Edaf. y Fisiol. Veg. 13, 35 (1954).
- ⁶ C. R. Gerber, N. H. Ishler et E. Borker, Comm. pour le «2nd Pittsburg Conference on Anal. and Appl. Spectroscopy» (1951). Résumé dans Analyt. Chemistry 23, 684 (1951).
- ⁷ P. T. Gilbert, Beckman Instruments Inc., Reprint R-56 (1952).

- ⁸ D. F. Kuemmel et H. L. Karl, *Analyt. Chemistry* **26**, 386 (1954).
⁹ H. J. Noebels, Beckman Instruments Inc., Reprint R-60 (1954).
¹⁰ J. Ramírez-Muñoz, *Représentations logarithmiques*, 2e Ed. Madrid: Paraninfo, 1954.
¹¹ R. A. Wolfe et R. G. Fowler, *J. Opt. Soc. Amer.* **35**, 86 (1954).

- Fig. 1. Spectres d'émission de flamme de éléments Co, Ni, Mn, Cr, Fe et du fond de flamme obtenu avec de l'eau distillée.
 Fig. 2. Courbes d'étalonnage. ($3V = \%T_{\text{élément}} - \%T_{\text{fond}}$).
 Fig. 3. Influence de Co sur le Ni.
 Fig. 4a. Influence du Co sur le Ni.
 Fig. 4b. Influence du Cr sur le Ni.
 Fig. 5. Erreurs dues à des rapports croissants p. p. m. de Cr/p. p. m. de Co et p. p. m. de Co/p. p. m. de Ni.
 Fig. 6a. Erreurs sur le éléments en fonction du rapport p. p. m. Ni/p. p. m. Élément.
 Fig. 6b. Erreurs en fonction du rapport p. p. m. de Co/p. p. m. E.
 Fig. 6c. Erreurs en fonction du rapport p. p. m. de Cr/p. p. m. E.
 Fig. 6d. Erreurs en fonction du rapport p. p. m. de Mn/p. p. m. E.
 Fig. 7. Erreurs en fonction du rapport p. p. m. de Fe/p. p. m. E.
 Fig. 8. Valeurs apparentes du Co en fonction des concentrations croissantes du Cr. Les teneurs théoriques croissent avec les concentrations du Cr suivant les courbes.
 Fig. 9. Courbes des valeurs de m en fonction des p. p. m. du Co et des p. p. m. du Cr. (Voir Fig. 8.) Le Cr comme élément interférent et le Co comme élément d'analyse.
 Fig. 10. Erreurs produites par des additions croissantes de SO_4H^+ conc. sur les éléments d'analyse.

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/88.

Zeilenanzahl: 343.

Instituto de Investigaciones Microquímicas de la Universidad del Litoral,
Rosario, Argentina.

**Sobre una nueva reacción microquímica que sirve
para caracterizar y diferenciar mediante técnicas
microanalíticas adecuadas mercurio, iridio, indio,
platino y oro.**

Por

Benjamin Berisso.

Con 7 figuras.

(Recibido 1° de junio de 1955.)

Al estudiar el comportamiento de nuevos reactivos frente a una serie de cationes, he podido comprobar que el azul de metileno en solución acuosa al 5%, proporciona reacciones microcristalinas interesantes con los siguientes iones: mercurio, iridio, indio, platino y oro.

Son numerosos los investigadores que se han ocupado del azul de metileno como reactivo, en las más diversas concentraciones. *Passerini* y *Michelotti*¹ lo han empleado al 0,05%, mientras que *F. Amelink*², lo ha usado al 1%. La gran mayoría de los investigadores que se han ocupado de este reactivo, lo han empleado para caracterizar una serie de iones, mediante reacciones de coloración.

Passerini y *Michelotti*¹ emplean el azul de metileno al 0,25% en solución acuosa, para individualizar el oro, proporcionando una coloración verde. Interfiere el sulfocianuro de potasio. Los mismos autores² con el mismo reactivo, han puesto de manifiesto, el paladio, coloración azul-violeta, que vira al verde. Igual reacción dan: el platino, mercurio y molibdeno. El iridio, coloración roja que vira al azul³; el wolframio^{VI}, coloración azul-violeta. Interfiere el cerio^{IV}, vanadio, molibdeno, mercurio, iridio, platino, oro y los aniones cromatos, sulfocianuro y ferrocianuro⁴. *A. Monnier* y *L. Passerini* y *Michelotti* han caracterizado el anión cromato, con el azul de metileno a la misma concentración, proporcionando una coloración rojo negruzca, anunciando que gran cantidad de aniones y cationes, dan la misma reacción⁵; los investigadores designados en segundo término también se ocuparon de poner en evidencia el cerio^{IV}, con lo que da una coloración rojo-verdosa⁶. *M. Y. Shapiro* ha investigado el talio, empleando como reactivo el azul de metileno, proporcionando una coloración azul, abteniendo una sensibilidad de una μg . No interfieren el niobio y titanio. No deben estar presentes: el molibdeno, vanadio, antimonio, estaño y tungsteno⁷. *F. Amelink*, logra caracterizar el anión clorato, con una solución de azul de metileno al 1%, coloración azul⁸. Otros autores han empleado reactivos compuestos donde participan el azul de metileno, así, *F. L. Hahn*⁹ individualiza el anión perclorato, después de dos o tres minutos, de emplear el siguiente reactivo: azul de metileno, 1,6% en agua, más nitrato de potasio al 40% en agua, proporcionando coloración rojovioleta. *G. Denigés*¹⁰ emplea el azul de metileno al 0,02% en solución acuosa y sulfito monosódico al 40% en agua, ha obtenido coloración azul con los formatos. No interfieren los persulfatos. Otros autores también han integrado sus reactivos con azul de metileno para caracterizar una serie de iones¹¹⁻¹⁴. Algunos investigadores han empleado el azul de metileno en solución acuosa para investigar ciertos iones, mediante reacciones microcristalinas¹⁵⁻¹⁷, mientras que otros han usado reactivos compuestos, donde participa el azul de metileno, para la misma finalidad¹⁰⁻¹⁴.

Con estos antecedentes y teniendo en cuenta que en los numerosos

trabajos consultados, no surgía que hubiesen sido considerados los cationes iridio, indio, platino, oro y mercurio en el estudio de nuevas reacciones cristalinas, inicié mis investigaciones, tratando en primer término de estudiar cual era la concentración del reactivo más adecuado para la finalidad buscada, llegando a la conclusión de que el azul de metileno en solución acuosa al 5%, se presta bien para poner en evidencia los iones mencionados.

Investigación del mercurio.

Sal empleada, cloruro mercurio.

Reactivo: azul de metileno al 5%.

Técnica: por el método de la difusión.

A una gota de la solución a investigar al uno por mil, colocada en un porta objeto, se pone en contacto con otra de reactivo, mediante una varilla de vidrio de dos mm., de diámetro, se dejan que se difundan entre si, se coloca el cubre-objeto, y después de 15 minutos, se observa al microscopio, notándose en el campo visual principalmente cristales reunidos en forma de haces, de color violeta intenso. También se observan algunos prismas cortos, rombos cuadrados, aciculares sueltos o agrupados en forma de ángulo, de color azul (ver fotomicrografía en figure 1).

Con la misma técnica se producen los cristales mencionados hasta uno en diez mil. En diluciones superiores debe recurrirse a la siguiente técnica. A una gota de la solución a investigar puesta sobre un porta objeto, se evapora a sequedad, a suave calor, mediante una lámpara de alcohol. Se deja enfriar, se deposita sobre el residuo una microgota del reactivo, cantidad que levanta en su extremo una varilla de vidrio de mm. de diámetro, se deja en contacto algunos minutos, se coloca en el cubre-objeto, y se observa al microscopio, notándose en el campo visual, los mismos cristales señalados, cada vez en menor número a medida que aumenta la dilución.

Comportamiento de los cristales al microscopio de polarización.

Los cristales en haces, estrellas aciculares sueltos o formando ángulo, se presentan todos los brillantes con ángulos de extinción oblicua que varían entre 30° y 50°. Pertenecen por tanto al sistema triclínico. Los cristales de forma romboédrica o cuadrada se presentan al microscopio de polarización todos oscuros, pertenecen por tanto al sistema monoclinico.

Sensibilidad: Límite de identificación: 0,05 λ . Concentración límite: 10⁻⁵.

Investigación de iridio.

Sal empleada: cloruro de iridio.

Técnica: por método de la difusión.

Análogamente como lo hemos descripto se obtienen cristales que toman la forma de una cruz de dos brazos, bastones cortos, sueltos, o con prolongaciones en un sentido, de tres o cuatro ramas, otros formando ángulos, estrellas muy bonitas, apareciendo escasos cristales de forma ne unai griega y de una equis, todos de color azul. La reacción se produce instantáneamente al poner la solución a investigar en contacto con el reactivo (ver figure 2).

Técnica: mediante frotamiento de la solución a investigar en presencia del reactivo.

A una gota de la solución a investigar, puesta sobre un porta-objeto, se coloca otra microgota del reactivo, cantidad que levanta una varilla de vidrio de 2 mm. de diámetro, se agita la preparación con la misma varilla, frotando en forma circular. Apenas se observa una variación en el tinte de la misma, se coloca el cubre-objeto y se observa al microscopio, notándose los cristales descriptos por el método de la difusión.

Sensibilidad: Límite de identificación: 0,05 λ . Concentración límite: 10⁻⁵.

Investigación del platino.

Sal empleada, cloruro de platino.

Técnica: Mediante los métodos de difusión y evaporación citados, siguiendo los mismos detalles descriptos, el platino da lugar a la formación

de cristales aciculares, sueltos o agrupados, formando ángulos, bastones cortos, algunos toman la forma de una i griega, o bien el de una cruz de dos brazos, de color azul. La máxima sensibilidad se obtiene por difusión (ver figure 3).

Sensibilidad: Límite de identificación: $0,05 \lambda$. Concentración límite: 10^{-5} .

Investigación del oro.

Sal empleada cloruro de oro.

Técnica: Con los métodos de difusión y evaporación se obtienen los mismos cristales descritos al considerar el platino. La diferencia que se comprueba entre estos dos iones, es que mientras el platino por el método de la difusión proporciona reacción positiva hasta un límite de identificación de 5 centésimos de μg , el oro, por el mismo método tiene una sensibilidad menor.

Sensibilidad: Límite de identificación: 1λ . Concentración límite: $5 \cdot 10^{-4}$.

Investigación del indio:

Sal empleada, cloruro de indio.

Técnica: La única técnica que me ha proporcionado resultados ampliamente satisfactorios, es la siguiente: a una gota de la solución a investigar al 1 por mil, puesta sobre un porta-objeto, se evapora a sequedad, suave calor, mediante el empleo de una lámpara de alcohol. Se deja enfriar, se agrega luego sobre el residuo una gota del reactivo, se coloca el cubre-objeto y se observa al microscopio. En contados minutos se nota una gran cantidad de cristales en forma de fardos de pasto ceñidos por la parte media, de color violeta. Por su forma se diferencia de todos los iones estudiados (ver figure 4).

Sensibilidad: Límite de identificación: $0,05 \lambda$ Concentración límite: 10^{-4} .

Comportamiento a la luz polarizada.

El iridio, indio, platino y oro, tienen un comportamiento similar al ser observados en el microscopio de polarización con nicoles cruzados. Todos los cristales se presentan brillantes, con ángulo de extinción oblicua, que varían entre 20° y 60° . Son por tanto biáxidos y pertenecen al sistema triclínico. De lo que antecede se deduce, que mediante la reacción micro-química propuesta se diferencian entre si los cationes mercurio, iridio e indio, por presentar algunas formas cristalinas que le son propias y a su vez los tres iones mencionados se diferencian del platino y oro que presentan formas cristalinas similares.

Investigación y diferenciación microanalítica del oro y platino.

Para diferenciar el oro del platino, se puede recurrir a la reacción de C. Putman¹⁸ que da lugar a la formación de un bromaurato de piridina. Para llenar esta finalidad debe procederse de la siguiente manera. Se provoca la reacción en estudio de la sal de oro con el azul de metileno, o bien en la mezcla de dos gotas pertenecientes a las sales respectivas de oro y platino. Como las formas cristalinas de ambos iones son similares, se provoca una reacción topochímica¹⁹⁻²⁰, es decir, se agrega por difusión entre el porta y cubre-objeto, los siguientes reactivos: una microgota de una solución saturada de bromuro de potasio p.p.a., siendo suficiente la cantidad que levante el extremo de una varilla de vidrio de 2 mm. de diámetro, añadiendo luego, vestigios de piridina, con otra varilla de vidrio similar.

Observando simultáneamente al microscopio la preparación, se puede comprobar que se van transformando los cristales pertenecientes al catión oro, para el caso que se encuentre solo, o bien, algunos cristales, si se encuentra mezclado con el platino, en otros, prismáticos, virando el color azul de los primitivos, a un color amarillo anaranjado, del nuevo complejo formado, del bromurato de piridina.

Si tratara de una solución en que se sospecha puede existir oro y platino, el problema se resuelve de la siguiente manera. Después de haber verificado la comprobación del oro como hemos descrito proce-

demos a individualizar el platino recurriendo a las reacciones aconsejadas por *Whitmore* y *Schneider*²¹, quienes después de haber realizado un interesantísimo estudio sobre 44 reactivos del platino, aconsejan los que resultaron específicos, en primer lugar, con la triada: platino, iridio y osmio y luego el comportamiento que presentaba ante la triada: rutenio, rodio y paladio.

En primer término aconsejan el empleo como reactivo del platino de una solución al 10% de meta-fenilendiamina. A este fin se evapora de la solución a investigar, a suave calor mediante el empleo de una lámpara de alcohol, se deja enfriar, se le agrega sobre el residuo una microgota del reactivo. Se forma un precipitado, que observado al microscopio resulta estar formado por unos cristales alargados característicos en las mismas condiciones el osmio y el rutenio dan resultado negativo; el iridio, rodio y paladio dan precipitados amorfos. Como los autores mencionados no estudiaron las sensibilidades de las reacciones que aconsejaban, *A. Martini*²², completó este estudio. Aplicando su técnica de inclusión en geles, logró una sensibilidad de 0,5 λ .

Con clorhidrato de meta-teluidina, en solución concentrada, siguiendo la técnica descrita, se obtiene una gran cantidad de cristales aciculares, reunidos en gavillas. Se forman luego, prismas hexagonales, quebrados en las extremidades. Los demás elementos de la serie del platino dan precipitados amorfos o reacción negativa (*Martini*²²). La sensibilidad determinada por este investigador es igual a la anterior.

Empleando el clorhidrato de dietilamina, en solución concentrada, en las mismas condiciones señaladas para los casos anteriores, se forman rombos de color amarillo brillante. Aparecen también en el campo visual prismas cortos hexagonales y cristales de forma cúbica. El rutenio y el rodio dan reacciones negativas. El paladio, después de algún tiempo placas de forma hexagonal, color púrpura pálido. El osmio proporciona formas similares al paladio. La sensibilidad determinada por el mismo autor es análoga a las anteriores.

Continuando este estudio, he podido constatar que los iones, cromatos, bicromatos y percloratos, con el reactivo considerado, proporcionan en las mismas condiciones operativas, sistemas cristalinos similares al oro y al platino. Estas interferencias, se resuelven, investigando previamente, la presencia o no, de uno de estos iones mediante el empleo de reacciones específicas de cada uno de ellos.

Hace unos años estudié nuevas reacciones microquímicas específicas de varios aniones, entre ellos, los cromatos y bicromatos, que prestan gran utilidad para el caso que se plantea en esta investigación²³.

Para indagar la presencia de los iones cromato o bicromato, se procede de la manera siguiente. A una gota de la solución a investigar puesta sobre un porta objeto, se le agrega otra de reactivo cupri-piridínico (solución al 10% de sulfato de cobre, 4 c.c., piridina 1 c.c. y agua destilada 5 c.c.) se agita el todo con una varilla de vidrio se notan de inmediato unas estrías circulares, de color verdoso, se coloca el cubre-objeto y se observa al microscopio. Si existe en la solución el anión cromato, se constata la presencia de cristales, muy bien formados, prismáticos, que cuando están unidos toman una forma similar a una *H*. También forman cruces y estrellas cuando se agrupan. Pertenecen al complejo Werneriano, que se integra, se trata de un cromato-cupripiridínico, de color verde claro (ver figura 5). Con la misma técnica y reactivo, se pone en evidencia el anión bicromato, proporcionando cristales muy característicos, prismas cortos, de color verde claro. En este caso se forma un complejo denominado bicromato-cupripiridínico (figura 6). Esta reacción (*B. Berisso*, 1942), es la más sensible y específica de las reacciones microcristalinas conocidas. Es interesante consignar, que si los aniones cromatos y bicromatos se encontraran en mezclas, no ofrece ninguna dificultad, su individualización, por cuanto con mi reacción, ha podido comprobar²⁴, que soluciones mezclas, de distintas concentraciones, de los iones que venimos considerando, aplicando el reactivo cupri-piridínico (*Zwicker*), con la misma técnica descrita, se forman los dos tipos de cristales mencionados, muy fácil de reconocer y diferenciar, en un mismo campo de preparación.

Para reconocer el perclorato se debe recurrir a la reacción de *Behrens y Kley*, quienes emplean los siguientes reactivos: una solución de cloruro de rubidio al 20% y otra, concentrada, de permanganato de potasio. Siguiendo la técnica corriente, se producen cristales romboédricos, definidos y perfectos de color rojo (figura 7). La fórmula del complejo formado, propuesta por *Behrens y Kley*, es la siguiente: $\text{RbClO}_4 + \text{RbMnO}_4$. Conclusiones: Mediante la reacción microquímica propuesta, se puede investigar y diferenciar los iones: mercurio, iridio e indio, entre sí, y a su vez de los iones platino y oro, recurriendo a reacciones topoquímicas, se logra también caracterizar el oro y el platino, bien por separado o en soluciones mezcla. Las posibles interferencias debidas a la presencia de los aniones cromatos, bicromatos y percloratos, quedan también eliminadas mediante su individualización previa, recurriendo a reacciones específicas de elevada sensibilidad, que proporcionan cristales definidos y perfectos, amen de poseer cromatismos o sea el máximo de las condiciones inherentes a una buena reacción microcristalina.

Resumen.

El autor estudia una nueva reacción microquímica para caracterizar y diferenciar el mercurio, iridio, indio, platino y oro, mediante el empleo como reactivo del azul de metileno en solución acuosa al 5%, que proporciona reacciones microcristalinas, de elevada sensibilidad. Las formas cristalinicas producidas por los tres primeros iones, son perfectamente diferenciables entre sí, como así también se distinguen del platino y oro, que ofrecen sistemas cristalinicos similares, pero que, mediante el empleo de reacciones inducidas, que son específicas unas del oro y otras del platino, se logran caracterizar y diferenciar a estensiones, ya sea que se encuentren solos, o en mezclas. Las posibles interferencias que puede producir con respecto al oro y platino, la presencia de los iones cromato, bicromato y perclorato, se solucionan, mediante el empleo de reacciones específicas de cada uno de ellos, llevando a cabo, previamente una investigación microanalítica. Se completa el estudio con el comportamiento de los sistemas cristalinicos producidos, a la luz polarizada, y se consignan las sensibilidades determinadas. (Se acompañan microfotografías que ilustran esta contribución.)

Zusammenfassung.

Eine neue mikrochemische Reaktion zur Charakterisierung und Unterscheidung von Quecksilber, Iridium, Indium, Platin und Gold wurde untersucht. Als Reagens dient Methylenblau in 5%iger wässriger Lösung, das hochempfindliche Mikrokristallreaktionen liefert. Die mit den drei erstgenannten Ionen entstehenden Kristallformen sind ohne weiteres voneinander unterscheidbar. Von Platin und Gold lassen sie sich durch Benützung induzierter Reaktionen unterscheiden, von denen die einen für Gold, die anderen für Platin spezifisch sind. Die Unterscheidung von den obenangeführten Ionen ist möglich, gleichgültig, ob sie sich allein oder im Gemisch vorfinden. Mögliche Störungen, die bei Gold und Platin durch Chromat, Bichromat und Perchlorat auftreten können, werden durch spezifische Reaktionen ausgeschaltet. Die Empfindlichkeiten und die im polarisierten Licht ermittelten Kristallsysteme werden angegeben.

Bibliografía.

- ¹ L. Passerini y Michelotti, Tablas Internacionales de reactivos y nuevas reacciones 1938, 67.
- ² L. Passerini y Michelotti, Tablas Internacionales de reactivos y nuevas reacciones 1938, 76.
- ³ L. Passerini y Michelotti, Tablas Internacionales de reactivos y nuevas reacciones 1938, 81.
- ⁴ L. Passerini y Michelotti, Tablas Internacionales de reactivos y nuevas reacciones 1938, 100.
- ⁵ A. Monnier y L. Passerini y Michelotti, Tablas Internacionales de reactivos y nuevas reacciones 1938, 135.
- ⁶ L. Passerini y Michelotti, Tablas Internacionales de reactivos y nuevas reacciones 1938, 145.
- ⁷ M. Y. Shapiro, Tablas Internacionales de reactivos y nuevas reacciones 1938, 77.
- ⁸ F. Amelink, Tablas Internacionales de reactivos y nuevas reacciones 1948, 153.
- ⁹ F. L. Hahn, Tablas Internacionales de reactivos y nuevas reacciones 1938, 298.
- ¹⁰ G. Denigès, Tablas Internacionales de reactivos y nuevas reacciones 1938, 349.

- ¹¹ A. Monnier y M. Korenman, Tablas Internacionales de reactivos y nuevas reacciones 1938, 188.
- ¹² F. L. Hahn y O. S. Federova, Tablas Internacionales de reactivos y nuevas reacciones 1938, 298.
- ¹³ G. Denigès, Tablas Internacionales de reactivos y nuevas reacciones 1938, 349.
- ¹⁴ M. Koerg, Tablas Internacionales de reactivos y nuevas reacciones 1948, 47.
- ¹⁵ K. A. Hofmann, A. Monnier, D. Kruger y E. Tschirch, Tablas Internacionales de reactivos y nuevas reacciones 1948, 297.
- ¹⁶ R. Ralea, Tablas Internacionales de reactivos y nuevas reacciones 1948, 63.
- ¹⁷ R. Strebienger, Prácticas de Química Analítica Cuantitativa. ■■■■: ■■■■, p. 147.
- ¹⁸ C. Putman, a, 1928, Curso de Microanálisis Cualitativo. A. Martini, Public. Inst. Invest. Microquím. Rosario 3, 81 (1939); 5, 5 (1941).
- ¹⁹ A. Martini, Las Reacciones Topoquímicas y su importancia Microanalítica. Public. Inst. Invest. Microquím. Rosario 5, 5 (1941).
- ²⁰ B. Berisso, Reacciones Topoquímicas. Public. Invest. Inst. Microquím. Rosario 9, 59 (1945).
- ²¹ W. F. ■■■ Withmore y F. Schneider, Mikrochem. 17, 279 (1935).
- ²² A. Martini, Public. Inst. Invest. Microquím. Rosario 6, 112 (1942).
- ²³ B. Berisso, Sobre tres reacciones microquímicas específicas y diferenciales de los aniones, manganato, permanganato, cromato y bicromato. Public. Inst. Invest. Microquím. Rosario 6, ■■■ (1942).
- ²⁴ B. Berisso, Sobre el carácter selectivo y diferencial de la reacción del autor, del anion permanganato, en presencia de otros aniones. Public. Inst. Invest. Microquím. Rosario 9, 20 (1945).

Mikrochimica Acta (Tagung).
O/89.

Zeilenanzahl: 148.

Instituto de Investigaciones Microquímicas de la Universidad del Litoral,
Rosario, Argentina.

Sobre un nuevo complejo microquímico y su aplicación a la investigación del Cu^{++} .

Por

Juan Carlos Baró Graf.

Con 4 figuras.

(Recibido 1° de junio de 1955.)

Entre las reacciones microquímicas relativas al Cu^{++} tenemos la clásica reacción de *Behrens*, que da lugar a la formación de cristales verdosos alargados, de sulfocianuro doble de mercurio y cobre; la que conduce a la integración de microcristales de color marrón, claro al oscuro, correspondientes a un complejo de yuxtaposición cupri-hexanitrito plúmbico potásico obtenido con disoluciones de acetato o nitrato de plomo y nitrito de potasio (o bien cloruro de potasio y nitrito de sodio saturado), ambas registradas como reacciones microcristalinas en el primer y tercer informe de la Comisión Internacional de Reacciones Reactivos analíticos nuevos¹. Tanto la primera como la segunda han sido aplicadas exitosamente en microanálisis inorgánico, ya sea en minerales, aleaciones, toxicología, etc. Aparte de ellas, existen numerosas reacciones más, también microcristalinas como la obtenida con sulfocianuro de potasio y quinolina, o bien piridina (*Martini*); la obtenida con salicilaldoxima en solución alcohólica (*Ephraim*); con permanganato de potasio y piridina; con sulfocianuro de amonio y acridina; etc. etc.

Asimismo, hace algunos años, presenté otra nueva reacción para el ión cúprico utilizando como reactivo el ácido benzoico en piridina, el cual da lugar a la formación de microcristales característicos²; con posterioridad estudié otra para el mismo catión³ con ácido picolínico que produce un complejo interno, con el agregado que reacciona también con otros iones (bario, oro y platino) produciendo cristales de características diferentes.

Ahora bien, la nueva reacción que me ocupa se consigue utilizando como reactivo una solución saturada de ácido salicílico en piridina.

Como es sabido, el cloruro cúprico en solución más o menos concentrada origina con la piridina un precipitado celeste y en parte azul-violáceo, que se solubiliza en exceso de piridina dando una coloración violácea. Empero, el precipitado citado que está integrado por varillas o agujas no se produce frente a la piridina a diluciones cercanas al 1×100 de cloruro cúprico pero al añadir luego de la piridina mencionada, que en tales condiciones da negativo, unos cristales de ácido salicílico se originan microcristales característicos. Pude comprobar, después de numerosos ensayos, que utilizando como reactivo una solución casi saturada de ácido salicílico en piridina puede identificarse el ión cúprico en soluciones muy diluidas. Ordenando el estudio, coloqué sobre el portaobjeto una gota de una solución al 1×100 de cloruro cúprico y siguiendo la técnica corriente le agregué otra pequeñísima del reactivo mencionado más arriba. Se originaron cristales cuyas formas pueden observarse en la fotomicrografía figure 1. Puede, a su vez, notarse en el campo microscópico el desarrollo de tales agregados cristalinos, que adquieren formas más avanzadas, algunos maclados.

En disoluciones del 1×1000 se obtienen dichas formas agrupadas con un grado mayor en su desarrollo como puede verse en la fotomicrografía (figure 2) tomada con el mismo aumento y con la dilución citada.

Al 1×10.000 la reacción resulta positiva y los cristales aparecen ordinariamente aislados, muchos como cristal perfecto (ver figure 3), presentándose a estas diluciones prácticamente incoloros. No obstante, no cabe duda de que interviene el cobre en estos cristales pues realicé una reacción topoquímica empleando el reactivo de *Behrens* (sulfocianuro de mercurio y potasio). Haciendo fluir por los bordes del cubre-objeto una pequeña gota del mismo y observando el campo microscópico pude notar nítidamente el ataque que se produce hasta la transformación en cristales verdosos amarillentos característicos del nuevo compuesto formado. La figure 4 muestra un campo con microcristales en vías de transformación, obtenido previamente con diluciones del 1×10.000 . Corresponde destacar, que en lo que a sensibilidad respecta, obtuve resultados positivos en diluciones superiores a la citada últimamente haciendo actuar, sobre una gota de la solución cúprica, una ínfima cantidad del reactivo colocada en el borde de dicha gota. Conseguí de esta manera llegar a un límite de identificación de $0,5 \mu\text{g}$ (L. I. $\approx 0,5 \mu\text{g}$) y una concentración límite de $1 : 100.000$. Puede aumentarse, empero, utilizando la técnica de inclusión en geles o bien para grandes diluciones se puede proceder a eva porar, en un mismo lugar del porta, dos o más gotas a débil calor.

Buscando aclarar acerca de la fórmula química o a que responde el compuesto formado hice algunas reacciones topoquímicas y químicas. Procuré, utilizando una reacción microquímica que hallé hace unos 10 años al estudiar algunos heteropoliácidos⁴, reconocer la intervención de la piridina en los cristales. Con una técnica similar a la anterior, empleando una solución saturada de ácido silico-túngstico pude observar las alteraciones en los microcristales; a su vez, recordando otra reacción microcristalina que estudiamos para la plata⁵, mediante el salicilato de sodio, pensé en utilizarla a la inversa para caracterizar el ácido salicílico (*Behrens, Jurany*), empleando una disolución concentrada de nitrato de plata la cual origina prismas incoloros monoclinicos y placas, también incoloras, de salicilato de plata. A tal efecto, hice fluir una pequeña gota de la disolución de nitrato de plata y estudié las alteraciones producidas en algunos microcristales presentes en el campo visual. Por otro lado, una disolución acuosa de salicilato de sodio frente a otra de cloruro cúprico (también ensayé con sulfato de cobre) provoca un precipitado que en el campo microscópico aparece amorfo; sin embargo, al agregar una pequeña cantidad de piridina por los bordes del cubre aparecen inmediatamente en el campo visual los cristales en cuestión. Ello tiende a corroborar la intervención de la piridina en el compuesto microcristalino hallado.

Cabe señalar, de paso, que también trabajé en el estudio de esta reacción del ión cúprico con otras sales como acetato, sulfato, etc., en lugar de cloruro, con resultados igualmente satisfactorios.

Los estudios teórico-prácticos realizados me llevan a pensar que se trata de un compuesto de salicilato cupri-piridínico, análogo al cupri-benzoato-piridínico, mencionado al principio.

Finalmente, estudié los microcristales hallados al microscopio de polarización comprobando su anisotropía; son fuertemente birrefringentes presentando el comportamiento de los cristales biáxicos, perteneciendo al sistema triclinico.

Resumen.

El ácido salicílico disuelto a casi saturación en piridina constituye un buen reactivo para identificar al ión cúprico. El autor recurre, aparte de otros ensayos químicos, a reacciones topoquímicas a fin de establecer la naturaleza del complejo formado y concluye que el compuesto microcristalino es un cupri-salicilato-piridínico. Acompaña las fotomicrografías correspondientes y estudia la sensibilidad de la reacción que supera un límite de identificación de $0,5 \mu\text{g}$ y una concentración límite de $1 : 100.000$. A su vez, estudia los microcristales a la luz polarizada y determina el sistema cristalino a que pertenecen.

Zusammenfassung.

Fast bis zur Sättigung in Pyridin gelöste Salicylsäure ist ein gutes Reagens zur Identifizierung von Kupferionen. Nach anderweitigen chemischen Versuchen entscheidet sich der Verfasser für topochemische Reaktionen, um die Natur des entstandenen Komplexes festzustellen, und schließt daraus, daß es sich bei der kristallinen Verbindung um ein Kupfer-Pyridin-Salicylat handelt. Die Empfindlichkeit der Reaktion wurde geprüft: die Erfassungsgrenze beträgt $0,5 \mu\text{g}$, die Grenzkonzentration von $1 : 100.000$ wird übertroffen. Die in Mikrophotographien wiedergegebenen Kristalle wurden im polarisierten Licht untersucht und das zugehörige Kristallsystem ermittelt.

Bibliographie.

- ¹ Primer informe de la Comisión Internacional de Reacciones y Reactivos analíticos nuevos. Leipzig. 1938; tercer informe, publicado en París. 1948.
- ² J. C. Baró Graf, Sobre nuevas reacciones microquímicas del cobre y el cadmio. Public. Inst. Invest. Microquím. Rosario 12, 00 (1948).
- ³ J. C. Baró Graf, Sobre nuevas reacciones microquímicas del cobre y el paladio. Public. Inst. Invest. Microquím. Rosario 17, 00 (1953).
- ⁴ J. C. Baró Graf, Sobre unas nuevas reacciones microquímicas de la piridina y quinolina. Public. Inst. Invest. Microquím. Rosario 8, 00 (1944).
- ⁵ A. Martini y J. C. Baró Graf, El salicilato de sodio como reactivo microquímico diferencial de los cationes plata, plomo y mercurio. Public. Inst. Invest. Microquím. Rosario 3, 00 (1939).